

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LES PROPRIÉTÉS DE L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE

par L. NÈGRE et A. BOQUET.

Nous avons précédemment décrit le mode de préparation de l'antigène tuberculeux méthylique et les résultats qu'il donne dans le traitement de la tuberculose expérimentale du cobaye et du lapin.

Dans ce travail, nous exposerons quelques nouvelles recherches qui confirment l'efficacité thérapeutique de cet antigène et qui permettent de préciser le mécanisme de son action sur l'infection bacillaire. Nous montrerons ensuite les résultats obtenus par l'antigénothérapie appliquée au traitement des diverses localisations de la tuberculose humaine.

EFFETS DE L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE SUR LA TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DES ANIMAUX DE LABORATOIRE.

Il ressortait de nos premières expériences que la plupart des animaux traités par l'antigène méthylique survivent plusieurs mois aux témoins en se maintenant en bon état jusque dans les dernières périodes de leur maladie. Les cobayes présentent dans la moitié des cas des lésions localisées aux ganglions lym-

phatiques et à la rate et les lapins des tubercules pulmonaires moins confluent que chez les témoins. Dans les autres organes, exceptionnellement atteints, et dans les poumons, nous avons trouvé des lésions en voie de sclérose lorsque le traitement avait duré assez longtemps.

Simpson et Spray, qui ont traité par des injections sous-cutanées d'antigène des lapins infectés par inoculation intraveineuse de 1 milligramme de bacilles virulents, ont obtenu des résultats identiques.

F. Bassols a également constaté que les injections sous-cutanées d'antigène méthylique, répétées tous les quatre jours chez des cobayes inoculés avec des crachats tuberculeux, retardent manifestement l'évolution des lésions et favorisent le processus de sclérose.

INFLUENCE DE LA RÉPÉTITION DES DOSES.

Dans notre précédente publication, nous avons déjà indiqué que, d'après nos essais expérimentaux, la répétition trop fréquente des injections d'antigène méthylique doit être évitée. La même constatation a été faite par les cliniciens qui ont utilisé ce produit dans le traitement de la tuberculose humaine.

L'expérience suivante prouve que, lorsque les injections sont trop rapprochées, l'antigène n'exerce plus aucune action.

EXPÉRIENCE. — 10 lapins sont infectés par injection intraveineuse de 1/1.000 milligramme de la souche Bovine Vallée.

4 lapins sont traités par des injections sous-cutanées, 2 fois par semaine, de 1 cent. cube d'antigène méthylique.

4 lapins reçoivent la même quantité d'antigène méthylique, mais répartie en 4 injections de 1/2 cent. cube par semaine.

2 lapins non traités sont conservés comme témoins.

Les 4 premiers sont morts les cent cinquantième, cent quinzisième, cent vingtième, cent quarantième jours avec des lésions pulmonaires non confluentes.

Les 4 lapins traités par 4 injections par semaine sont morts : les soixante-quinzième, quatre-vingtième, centième et cent-quinzième jours avec des lésions pulmonaires massives et quelques tubercules rénaux.

Les deux témoins sont morts les soixante-quinzième et quatre-vingt-dixième jours avec les mêmes lésions que ces derniers.

A quantités égales d'antigène, les injections trop rapprochées perdent leur efficacité.

EXTRACTION PRÉALABLE DES SUBSTANCES CIRO-GRAISSEUSES.

Lorsque leur contact avec l'acétone n'est pas assez prolongé, toutes les cires et les graisses bacillaires ne sont pas dissoutes. Or, ces substances offrent l'inconvénient, lorsqu'elles sont injectées à des animaux tuberculeux, d'activer l'évolution de leurs lésions. Nous avons donc cherché à nous rendre compte s'il n'y aurait pas avantage à renforcer l'action de l'acétone en l'associant à d'autres solvants des graisses comme l'éther ou le toluène.

Nous avons ainsi préparé un extrait méthylique avec des bacilles tuberculeux traités préalablement pendant huit heures par l'acétone puis par l'éther, et un autre extrait avec des bacilles traités pendant deux jours par le toluène.

EXPÉRIENCE. — 13 lapins ont été infectés par inoculation intraveineuse de 1/1.000 de milligramme de bacilles bovins (Bovine Vallée).

3 ont été traités par l'antigène méthylique de bacilles dont la substance ciro-graisseuse avait été extraite par l'acétone-éther;

4 par l'antigène méthylique de bacilles préalablement soumis à l'action du toluène.

4 par l'antigène méthylique ordinaire.

2 ont été conservés comme témoins.

Dans le premier lot (acétone-éther), les lapins sont morts :

Le premier, le soixantième jour après l'inoculation avec des lésions pulmonaires confluentes;

Le second, le cent trente cinquième jour avec des lésions pulmonaires confluentes et 2 tubercules rénaux.

Le troisième, le cent quarantième jour avec des lésions pulmonaires et rénales.

Dans le deuxième lot (toluène), les lapins sont morts les cent cinquième, cent vingtième, cent trentième et cent trente-cinquième jours avec des lésions pulmonaires confluentes et des lésions sur la rate et les reins.

Dans le troisième lot (antigène méthylique ordinaire), les lapins sont morts les cent vingtième, cent trentième, cent trente-cinquième et cent cinquantième jours avec des lésions pulmonaires non confluentes et de rares tubercules rénaux.

Les deux lapins témoins sont morts les soixante-quinzième et quatre-vingt-dixième jours avec des lésions pulmonaires confluentes et quelques tubercules rénaux.

C'est donc dans le lot des lapins traités par l'antigène méthylique ordinaire que la survie des animaux et la localisation de leurs lésions ont été le plus prononcées.

Seuls les animaux de ce lot sont restés en bon état jusqu'à la

fin de l'expérience, alors que ceux des autres lots maigrissaient et se cachectisaient.

Nous pouvons en conclure qu'il y a tout intérêt à conserver l'acétone et l'acétone seul comme solvant des substances circo-graisseuses dans le premier temps de la préparation de l'antigène méthylique.

ACTION DE L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE SUR L'INTOXICATION TUBERCULEUSE EXPÉRIMENTALE

Au cours de nos recherches nous avons été frappés par le fait que les lapins et les cobayes, infectés à l'aide d'un bacille virulent et traités par des injections bi-hebdomadaires d'antigène méthylique, se maintiennent en bon état général alors que les animaux témoins, non traités, diminuent de poids et se cachectisent progressivement.

Les cliniciens qui ont employé l'antigène méthylique dans le traitement des diverses localisations de la tuberculose humaine ont également observé que dès les premières injections l'état général des malades se transforme.

Nous avons essayé de voir si dans ses formes les plus simples, par exemple celle que l'on peut réaliser chez les animaux de laboratoire par inoculation de bacilles morts, l'intoxication tuberculeuse est susceptible d'être efficacement combattue par l'antigène méthylique.

EXPÉRIENCE. — Dans une première série d'essais, 9 lapins ont été inoculés le 8 mars dans la veine avec 16 centigrammes de bacilles morts.

4 d'entre eux ont reçu, les 8, 9, 12, 15 et 19 mars, 2 cent. cubes d'antigène méthylique sous la peau; les 5 autres ont été conservés comme témoins.

Dans le lot des traités, à l'exception d'un seul, tous les animaux ont continué à augmenter de poids (120 à 130 grammes par semaine). Si l'antigène méthylique n'a pas réussi à empêcher leur mort, due à l'action toxique massive déterminée par la grosse quantité de bacilles injectés, du moins la survie moyenne des lapins de ce lot a été de vingt et un jours. Leurs lésions (pneumonie blanche, exsudat pleural) étaient moins prononcées que celles des témoins dont la survie moyenne a été seulement de seize jours avec diminution de poids (100, 140 grammes par semaine), à l'exception de deux restés stationnaires.

Aux doses employées, l'action directe des bacilles morts sur les tissus, sur le parenchyme pulmonaire en particulier, s'est exercée d'une façon si brutale que le traitement par l'antigène

méthylque n'a pu que circonscrire les lésions pneumoniques, ralentir leur évolution et donner une survie appréciable aux animaux traités sur les animaux témoins.

Avec des doses moindres, nous n'avons pas pu obtenir de résultats plus démonstratifs, car les symptômes de l'intoxication tuberculeuse ne se sont pas toujours manifestés nettement chez les animaux témoins.

Comme nous avons constaté que les extraits acétoniques de bacilles de Koch activent les lésions tuberculeuses et en précipitent l'évolution, nous nous sommes demandé si, à l'exemple de l'éthéro et de la chloroformo-bacilline d'Auclair, ces extraits peuvent provoquer chez le lapin normal des signes rappelant certains aspects cliniques de l'infection bacillaire, dont le traitement par l'antigène méthylque appliqué comme précédemment pourrait amener la régression.

EXPÉRIENCE. — 6 lapins ont reçu par injection intraveineuse, les 5, 8, 12 et 22 février et les 5 et 8 mars, 5 cent. cubes d'extrait acétonique de bacilles tuberculeux correspondant à 25 centigrammes de corps bacillaires pesés à l'état frais.

3 d'entre eux ont été traités par des injections sous-cutanées de 2 cent. cubes d'antigène méthylque les 19, 21, 26 février et les 1^{re}, 5, 8, 12, 15 et 19 mars.

Les 3 animaux ont continué à augmenter régulièrement de poids (200, 183 et 120 grammes) et tous ont survécu.

Les 3 lapins témoins non traités ont maigri rapidement (400 à 600 grammes) et 2 sont morts avec des lésions de pneumonie blanche.

Il résulte de ces expériences que les extraits acétoniques de bacilles tuberculeux manifestent à l'égard du lapin normal une toxicité évidente, qui se traduit par un amaigrissement rapide et des lésions pulmonaires. Par contre les extraits acétoniques de bacilles paratuberculeux saprophytes tels que le bacille de la fièvre, administrés par la même voie et aux mêmes doses, se montrent dépourvus de toute nocivité.

La cachexie, provoquée par l'injection intraveineuse d'extrait acétonique de bacilles de Koch, peut être efficacement combattue par le traitement au moyen de l'antigène méthylque.

On peut donc admettre que l'influence favorable exercée par l'antigène méthylque sur l'état général et la nutrition des tuberculeux est due dans une certaine mesure à l'action antitoxique des lipoides bacillaires qu'il contient.

ACTION DE L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE SUR LA FORMULE
LEUCOCYTAIRE.

On sait que les variations de la formule leucocytaire donnent des renseignements intéressants sur l'évolution du processus tuberculeux. Nous avons donc conseillé à de Sanctis Monaldi de rechercher si l'action favorable du traitement par l'antigène méthylique, déjà mise en évidence par l'augmentation des anticorps, et les modifications du type des lésions, pouvait se manifester par des changements dans la teneur en leucocytes du sang.

De Sanctis Monaldi a déterminé les variations quantitatives et qualitatives des leucocytes du sang colorés par la méthode supra-vitale de Sabin et celles du rapport L/M (lymphocytes-monocytes) qui fournissent habituellement des indications précises sur l'évolution de la tuberculose.

EXPÉRIENCE. — Des lapins ayant une formule hématologique normale ont reçu par voie intraveineuse 1/1.000 de milligramme de bacilles bovins virulents, sauf deux gardés comme témoins.

Dix jours après l'inoculation, on commença le traitement de 6 lapins (Groupe A) par l'injection de 1 cent. cube d'antigène méthylique pur tous les trois jours durant trois mois.

Le traitement fut ensuite suspendu en vue d'observer l'évolution ultérieure de la maladie.

4 autres lapins (Groupe B) non traités furent conservés comme témoins tuberculeux.

Ils présentèrent une leucocytose rapide, principalement neutrophile, déjà évidente vers le dixième jour et atteignant par oscillations un chiffre supérieur de 1,5 à la normale.

Les éosinophiles diminuèrent, puis disparurent complètement vers la fin du premier mois.

Les lymphocytes augmentèrent relativement avec de fortes oscillations, parfois inverses de celles des polynucléaires neutrophiles.

Les monocytes, dès le début de l'infection, augmentèrent considérablement, arrivant presque à égaler le nombre des lymphocytes.

Le rapport L/M, d'une valeur moyenne normale de 3,1, diminua progressivement avec l'évolution de l'infection pour atteindre l'unité, annonçant ainsi l'issue fatale.

Les animaux de ce groupe sont morts soixante-cinq jours en moyenne après l'infection. Ils étaient tous cachectiques et atteints de graves lésions caséuses diffuses, pulmonaires et rénales.

Les 6 lapins du groupe A, traités par l'antigène méthylique, ont présenté les modifications de la formule hémoleucocytaire, différentes en tous points de celles du groupe B. Ces modifications se sont maintenues pendant toute la durée du traitement.

La polynucléose neutrophile, qui avait ici également débuté en même temps que l'évolution de l'infection, s'arrêta, puis diminua graduellement pour revenir à la normale. Les lymphocytes augmentèrent progressivement, puis dépassèrent les neutrophiles, si bien qu'on a observé une inversion de la formule hématologique et du rapport entre les granulocytes et les agranulocytes.

Les monocytes, qui au cours des vingt-trois à trente premiers jours de l'infection avaient triplé de nombre, diminuèrent sous l'action de l'antigène pour revenir aux valeurs normales. Les éosinophiles après une légère dépression initiale ont doublé pendant le traitement.

Le rapport L/M, qui était de 3,1 avant l'infection, augmenta progressivement sous l'action de l'antigène pour atteindre le chiffre de défense parfaite

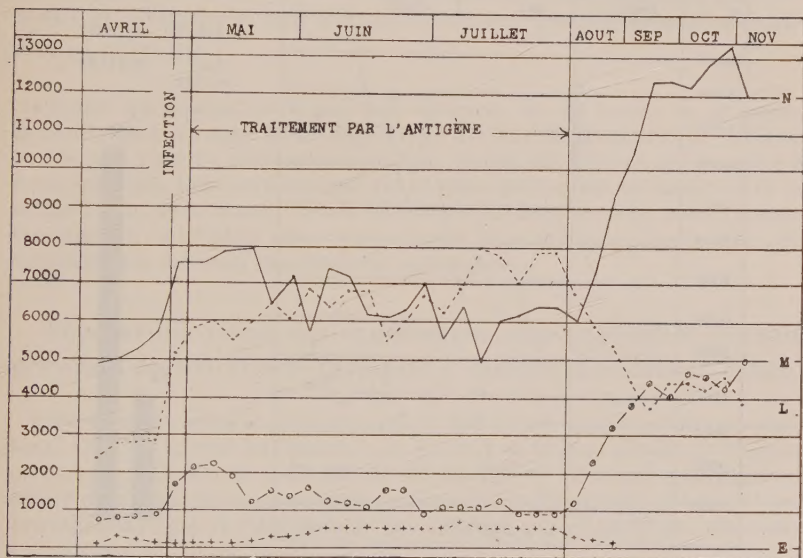


FIG. 1. — Graphique des variations leucocytaires chez les lapins tuberculeux traités par l'antigène (d'après de Sanctis Monaldi).

de l'organisme. Il est à noter que les animaux n'ont pas diminué de poids pendant tout le cours du traitement.

Après la cessation de ce dernier, la formule hémoleucocytaire présenta des modifications inverses qui devinrent finalement identiques à celles des lapins du groupe B. Cependant ces modifications ont apparu à plus longue échéance que chez les témoins tuberculeux comme si l'action de l'antigène subsistait encore un certain temps. Le rapport L/M tomba de 7,64 à l'unité et devint même négatif, atteignant 0,84, indice de pronostic défavorable.

La survie moyenne des animaux de ce groupe fut de cent quatre-vingt-quinze jours, c'est-à-dire supérieure de trois fois à celle des lapins du groupe B.

Les lésions différaient de celles du groupe B par des processus de sclérose, car dans certaines zones pulmonaires et dans quelques ganglions on trouva des tubercules caséifiés entourés par une coque dense et épaisse de tissu conjonctif scléreux.

De ces recherches morphologiques, il ressort que l'antigène méthylique provoque une modification favorable du rapport L/M chez les lapins tuberculeux auxquels il est injecté et une augmentation importante des lymphocytes qui interviennent dans la lutte contre l'infection bacillaire.

Ainsi donc, outre l'augmentation des anticorps et la tendance à la sclérose des lésions, que nous avons antérieurement mises en évidence, le pouvoir antitoxique des lipoides bacillaires et

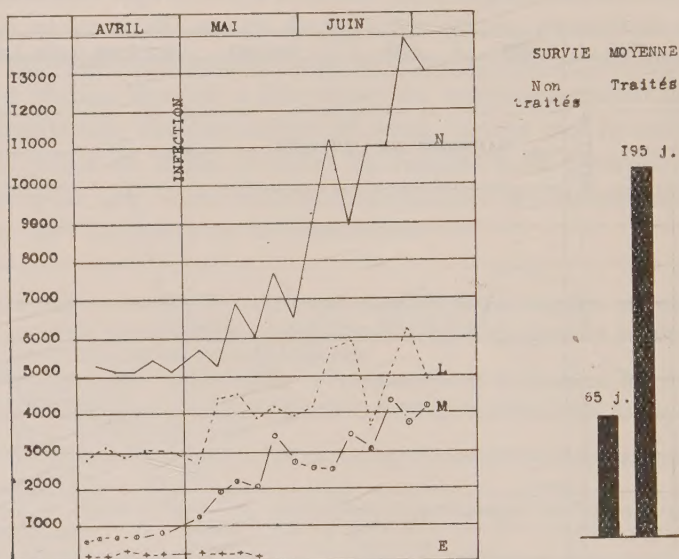


FIG. 2. — Graphique des variations leucocytaires chez les lapins tuberculeux témoins (d'après de Sanctis Monaldi).

l'augmentation des lymphocytes et des éosinophiles peuvent expliquer en partie les résultats si démonstratifs du traitement de la tuberculose expérimentale par l'antigène méthylique.

PROPRIÉTÉS PRÉVENTIVES DES EXTRAITS BACILLAIRES.

Nous avons déjà démontré que les extraits méthyliques du bacille de Koch n'agissent pas seulement en ralentissant et en circonscrivant la tuberculose expérimentale des animaux de laboratoire.

Contrairement à la tuberculine, ils possèdent également des

propriétés préventives très nettes qui se manifestent quand ils sont injectés à doses massives avant l'épreuve virulente.

Au cours de ces premières recherches, nous avons été amenés à comparer les effets curatifs et préventifs des extraits méthyliques et étherés de bacilles de Koch préalablement traités par l'acétone.

Nous avons constaté que les extraits étherés ne paraissaient pas supérieurs au point de vue thérapeutique aux extraits méthyliques. Au point de vue préventif, ils se montrent légèrement supérieurs à ces derniers comme l'avait prouvé l'expérience suivante :

4 lapins qui avaient reçu par voie veineuse du 26 février au 21 mars : 20 cent. cubes d'extrait méthylique et qui avaient été éprouvés par la même voie avec 1/1.000 de milligramme de Bov. Vallée ont survécu six semaines à deux mois aux témoins alors que sur 4 lapins qui avaient été éprouvés de la même façon, deux étaient morts précocement, mais les deux autres avaient été sacrifiés en très bon état six mois après l'inoculation virulente et ne présentaient que de rares granulations pulmonaires.

Nous avons repris ces expériences pour préciser le pouvoir préventif des extraits méthyliques et étherés et de leur mélange.

EXPÉRIENCE. — 4 lots de 6 lapins ont été traités par injection intraveineuse les 6, 9, 13, 17, 19 et 21 novembre de 2, 2, 2, 4 et 10 cent. cubes : 1° d'extrait méthylique (lot A); 2° d'extrait étheré (lot B); 3° d'extrait méthylique et étheré réunis par mélange en parties égales des deux solvants (lot C); 4° par extrait méthylique et étheré réunis par mélange en parties égales des deux suspensions aqueuses (lot D).

Tous ces animaux, ainsi que 3 lapins témoins, ont été éprouvés par injection intraveineuse de 1/1.000 de milligramme de souche Bovine Vallée.

Dans le lot A (extrait méthylique), 2 lapins sont morts prématurément.

Les 4 autres sont morts les cent dixième, cent vingtième, cent trentième et cent cinquantième jours après l'épreuve virulente avec des lésions pulmonaires confluentes et quelques granulations rénales.

Dans le lot B (extrait étheré), 1 est mort prématurément. Les 3 autres ont survécu cent vingt, cent trente-cinq, cent cinquante jours et présentaient les mêmes lésions que les animaux du groupe précédent, quoique avec des tubercules rénaux un peu plus nombreux.

2 qui survivaient deux cent cinquante jours après l'inoculation virulente ont été sacrifiés à ce moment et présentaient quelques gros tubercules isolés sur les poumons sans lésions des autres organes.

Dans le lot C (extrait méthylique et étheré, mélange des deux solvants), 1 lapin est mort précocement.

Les 5 autres sont morts cent cinq, cent vingt, cent trente, deux cent dix et deux cent quarante jours après l'inoculation, présentant des lésions pulmonaires non confluentes ou confluentes et quelques granulations rénales.

1 lapin sacrifié deux cent quarante-cinq jours après l'inoculation présentait les mêmes lésions.

Les 3 lapins témoins sont morts les soixante-quinzième, cent dix-huitième et cent vingt-deuxième jours avec des lésions pulmonaires confluentes et rénales.

EXPÉRIENCE. — 3 lots de 6 lapins ont été traités par injection intraveineuse, le 29 avril, 3, 5, 8 et 12 mai de 1, 2, 4 et 4 cent. cubes d'extrait méthylique (lot A), d'extrait éthéré (lot B) et d'extrait méthylique et éthéré réunis par mélange en parties égales (lot C).

Comme terme de comparaison, un quatrième lot de 5 lapins a été traité aux mêmes dates et par les mêmes doses d'extrait acétonique de bacilles de Koch.

Tous ces animaux ainsi que 3 lapins témoins ont été éprouvés par injection intraveineuse de 1/1.000 de milligramme de la souche Bovine Vallée.

Dans le lot A (extrait méthylique) :

1 lapin est mort précocement.

Le deuxième lapin est mort le quatre-vingt-deuxième jour après l'inoculation avec des lésions pulmonaires non confluentes, sans autres lésions.

Le troisième lapin est mort le cent neuvième jour avec 4 ou 5 tubercules sur chaque poumon, sans autres lésions.

Le quatrième lapin est mort le cent vingt-deuxième jour avec les mêmes lésions que le précédent.

Le cinquième lapin est mort le cent soixante-seizième jour avec des lésions pulmonaires non confluentes et un tubercule rénal.

Le sixième lapin est mort le deux cent trente-deuxième jour avec les mêmes lésions que le précédent.

Dans le lot B (extrait éthéré).

1 lapin est mort prématurément.

Le deuxième lapin est mort le cent cinquantième jour après l'inoculation avec des lésions pulmonaires non confluentes sans autres lésions.

Le troisième lapin est mort le cent soixante-dix-septième jour avec quelques granulations pulmonaires sans autres lésions.

Le quatrième lapin est mort le cent quatre-vingt-dix-neuvième jour avec des lésions pulmonaires non confluentes et 2 tubercules sur un rein.

Dans le lot C (extraits méthylique et éthéré réunis).

1 lapin est mort prématurément.

3 lapins sont morts les quatre-vingt-dix-neuvième, cent dix-neuvième et cent vingt-sixième jours après l'inoculation avec des lésions pulmonaires non confluentes et de rares granulations rénales, sauf un qui n'en présentait pas.

1 lapin est mort le cent soixante-dix-septième jour après l'inoculation avec quelques rares tubercules pulmonaires et sans lésions des autres organes.

1 lapin est mort le deux cent trente-septième jour avec des lésions pulmonaires non confluentes et une granulation sur un rein.

Dans le lot D (extrait acétonique).

1 lapin est mort quarante-cinq jours après l'inoculation avec des lésions pulmonaires et rénales.

1 lapin est mort en quatre-vingt-treize jours avec de grosses lésions pulmonaires caséuses diffuses.

1 lapin est mort en quatre-vingt-dix-huit jours avec une tuberculose pulmonaire caséuse massive et de nombreux tubercules sur la rate, le foie et les reins.

1 lapin est mort en cent sept jours avec des lésions semblables à celles de l'animal précédent.

Les 3 lapins témoins sont morts les cent sixième, cent treizième et cent trente-septième jours avec des lésions pulmonaires confluentes et des lésions rénales.

Dans une autre série d'expériences, des lapins traités préventivement soit par injection intraveineuse de 2, 4, 5 et 8 cent.



FIG. 3. — Sclérose des lésions tuberculeuses pulmonaires d'un lapin préalablement traité par des injections d'extrait éthéré de bacilles de Koch.

cubes d'extrait éthéré, soit par injection sous-cutanée des mêmes doses de cet extrait, puis éprouvés par injection intraveineuse de 1/1.000 de milligramme de la souche Bovine Vallée, se sont comportés de la même façon.

Les animaux qui avaient reçu les injections préventives ont

survécu aux témoins et sont morts avec des lésions sensiblement moins étendues que ces derniers.

D'autre part, chez ceux qui avaient été traités par les injections d'extrait éthéré, Coulaud a constaté une sclérose intense des lésions avec retour de l'épithélium pulmonaire à la forme cubique.

Il ressort de ces expériences que, chez les lapins, les extraits méthyliques et les extraits éthérés de bacilles de Koch préalablement traités par l'acétone, injectés préventivement en quantités massives dans les veines, circonscrivent et ralentissent l'évolution de la tuberculose d'épreuve.

Au contraire, les extraits acétoniques injectés préventivement ont pour effet d'aggraver le processus tuberculeux.

Comme les lapins tuberculeux traités par l'extrait méthylique, les lapins qui reçoivent préventivement des injections intraveineuses ou sous-cutanées d'extrait éthéré présentent dans certains cas une sclérose intense des lésions pulmonaires.

RÉSULTATS DONNÉS PAR L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DANS LE TRAITEMENT DE LA TUBERCULOSE HUMAINE.

Les premiers essais de Guinard ainsi que ceux d'Armand-Delille, puis ceux de Camino dans la tuberculose pulmonaire, de Courcoux et Bidermann, puis de Léon Bernard, Baron et Valtis dans les adénites bacillaires, de Lortat-Jacob et Béthoux ainsi que d'Halbron et Isaac Georges dans les tuberculoses cutanées, de Raphaël Massart et de Blankoff dans les tuberculoses ostéo-articulaires, de Magitot et M^{lle} d'Autrevaux dans les tuberculoses oculaires et de Phélip dans la tuberculose rénale, ont établi l'innocuité de l'antigène méthylique et son efficacité sur certaines formes de ces localisations de l'infection bacillaire.

Ces travaux, ainsi que ceux qui les ont suivis, ont montré que, sans présenter les inconvénients de la tuberculine, l'antigène devait être employé à doses progressivement croissantes et en injections suffisamment espacées.

Pour l'augmentation des doses et les intervalles qui doivent être observés entre les injections, on doit se laisser guider non seulement par les réactions générales ou focales que le malade

peut présenter, mais par les progrès qu'on peut constater dans son état.

Tous les praticiens qui ont utilisé l'antigène méthylique ont remarqué qu'il agit rapidement sur l'état général du malade qui reprend de l'appétit, des forces et du poids. Ces effets paraissent dépendre du pouvoir antitoxique que nous avons mis en évidence expérimentalement.

Son action sur les lésions est en général plus lente et varie suivant la localisation de l'infection tuberculeuse et son ancienneté.

L'antigène méthylique se montre particulièrement efficace dans toutes les localisations qui intéressent le système lymphatique, dans les tuberculoses ganglionnaires, ostéo-articulaires, péritonéales, pleurales, oculaires et génitales. Il agit aussi sur certaines formes de tuberculoses cutanées, rénales et pulmonaires.

Comme Courcoux et Bidermann, puis Léon Bernard, Baron et Valtis l'ont montré, l'antigène méthylique donne des résultats favorables dans des cas d'adénopathies tuberculeuses où les thérapeutiques usuelles ont échoué. Il amène la disparition rapide de la périadénite, la régression complète des adénopathies récentes, suppurées ou non suppurées, et la régression inconstante des adénopathies anciennes. Les ganglions anciens, calcifiés, résistent.

L'antigène exerce aussi une action tout à fait remarquable sur les ostéo-arthrites bacillaires lorsqu'il ne s'agit pas de lésions anciennes ou infectées secondairement.

Des abcès d'origine osseuse, des spina ventosa, des ostéo-arthrites du poignet, du genou ou de l'articulation tibio-tarsienne avec fistules et décalcification et nécrose de l'os ont été améliorés ou guéris par l'antigène méthylique.

Les essais de Raphaël Massart et de Blankoff sont tout à fait démonstratifs à ce sujet, ce dernier auteur ayant traité des enfants atteints de diverses localisations bacillaires ostéo-articulaires graves, qui avaient résisté à tous les traitements usuels.

Dans les cas d'adénites comme dans ceux d'ostéo-arthrites suppurées, les injections d'antigène n'arrêtent pas la marche de la suppuration. Souvent même elles l'activent au début du traitement, puis le pus se fluidifie et prend une couleur citrine.

Lorsque l'écoulement cesse, les fistules et les ulcérations se cicatrisent et laissent à leur place des cicatrices souples et non adhérentes.

Dans les péritonites caséuses, on peut suivre la diminution, puis la disparition des gâteaux péritonéaux sous l'influence du traitement. L'antigène méthylique exerce le même pouvoir résorbant sur les épanchements des péritonites ascitiques et des pleurésies séro-fibrineuses que sur les liquides des arthrites bacillaires. Il peut rendre de grands services dans le traitement des complications liquidienne du pneumothorax. Il empêche leurs transformations purulentes (Courcoux et Pierre Merklen, Camino).

Dans les orchio-épididymites tuberculeuses, les tuberculoses oculaires (chorio-rétinites, kératites, iritis) et les gommages tuberculeuses, l'action de l'antigène est aussi nette que dans les localisations précédentes.

En ce qui concerne les tuberculoses cutanéomuqueuses, les meilleurs résultats ont été obtenus dans les lésions à tendance ulcéreuse et végétante et sur les lésions des muqueuses, en particulier du larynx (Caboche, Souchet).

Sur les malades atteints de tuberculides papulo-nécrotiques et d'érythème induré de Bazin, des améliorations ont été régulièrement obtenues.

De nouveaux essais sont encore nécessaires pour se rendre compte d'une façon exacte des services que l'antigène méthylique pourra rendre dans le traitement de la tuberculose rénale. Cependant d'après les recherches de Phélip et celles de Blanchot, il est déjà permis de penser que l'antigène exerce aussi une action favorable sur ces lésions. Sauf dans deux cas, Phélip a constaté chez tous ses malades un arrêt net de l'évolution de la maladie. Chez deux d'entre eux, traités pendant trois ans par l'antigène, les bacilles ont disparu des urines qui étaient virulentes depuis 5 et 8 ans.

Les travaux, nombreux déjà, qui ont été faits depuis 7 ans ont montré que l'emploi de l'antigène méthylique dans le traitement de la tuberculose pulmonaire doit être réservé aux formes torpides, ulcéro-caséuses, fibro-caséuses, ulcéro-fibreuses, ainsi qu'aux formes de début à prédominance lymphatique.

Chez les tuberculeux pulmonaires, l'action de l'antigène

s'exerce d'abord sur l'état général et sur la température qui se régularise, puis se stabilise. Les anticorps augmentent, les lymphocytes et les éosinophiles s'accroissent aux dépens des monocytes. Les lésions se modifient plus lentement, ce qui s'explique par le fait que chez les lapins traités par l'antigène la sclérose n'apparaît pas avant 8 ou 10 mois après le début du traitement.

Cette action sur les lésions se traduit d'abord par une réduction du nombre et du volume des expectorations et dans certains cas par leur disparition. En même temps la toux diminue.

L'action sclérosante de l'antigène a été mise en évidence par de nombreux cliniciens aux examens stéthacoustiques et radiologiques. Mais la plupart d'entre eux ont noté que cette action ne s'exerce que très lentement, ce qui prouve que le traitement doit être prolongé très longtemps.

Enfin certains travaux récents ont montré que lorsque les lésions sont accessibles on peut remplacer les injections sous-cutanées d'antigène par des applications locales.

Blankoff a guéri des adénites, des ostéo-arthrites du poignet et une arthrite du genou en instillant l'antigène dans les trajets fistuleux.

Courcoux et Pierre Merklen ainsi que Camino ont obtenu par injection intra-pleurale d'antigène les résultats dont nous avons parlé dans le traitement des complications liquidiennes du pneumothorax.

CONCLUSIONS.

Les nouvelles recherches poursuivies par nous et par d'autres auteurs confirment que les injections sous-cutanées d'antigène méthylique exercent une action favorable sur l'évolution de la tuberculose expérimentale, à la condition qu'elles ne soient pas trop rapprochées et répétées plus de deux fois par semaine.

L'acétone paraît être le solvant des substances ciro-graisseuses qui convient le mieux pour le traitement préalable des bacilles de Koch qui servent à la préparation de l'antigène.

L'intoxication, provoquée par l'inoculation au lapin de bacilles morts ou de substances ciro-graisseuses extraites des bacilles par l'acétone, peut être combattue par des injections

d'antigène méthylique. On peut donc admettre que l'influence favorable exercée par l'antigène méthylique sur l'état général et la nutrition des tuberculeux est due en partie à l'action antitoxique des lipoides bacillaires qu'il contient.

L'antigène méthylique provoque une modification favorable du rapport $\frac{\text{lymphocytes}}{\text{monocytes}}$ chez les lapins tuberculeux auxquels il est injecté et une augmentation importante des lymphocytes auxquels on attribue le rôle essentiel dans la lutte contre l'infection bacillaire.

Les extraits méthyliques et les extraits étherés de bacilles de Koch préalablement traités par l'acétone, injectés préventivement à des lapins dans les veines ou sous la peau en quantités massives, circonscrivent et ralentissent l'évolution de la tuberculose d'épreuve.

Au contraire, les extraits acétoniques injectés préventivement ont pour effet d'aggraver le processus tuberculeux.

Comme les lapins tuberculeux traités par l'extrait méthylique, les lapins qui reçoivent, avant l'épreuve virulente, des injections intra-veineuses ou sous-cutanées d'extrait étheré présentent dans certains cas une sclérose intense de leurs lésions pulmonaires.

L'antigène méthylique, injecté par la voie sous-cutanée aux malades tuberculeux à doses progressivement croissantes en évitant d'atteindre celles qui provoquent des réactions générales ou focales, modifie rapidement leur état général.

Il exerce une action particulièrement favorable sur les tuberculoses ganglionnaires, ostéo-articulaires, péritonéales, pleurales, oculaires et génitales.

Dans les tuberculoses cutanées, il agit surtout sur les gommes, les lésions ulcéreuses et végétantes et sur les tuberculides papulo-nécrotiques.

Il paraît également appelé à rendre de grands services dans le traitement de la tuberculose rénale et de la tuberculose pulmonaire, dans les formes de début et les formes torpides, ulcéro-caséuses et fibro-caséuses.

OUVRAGES CITÉS

- ARMAND-DELILLE, DUHAMEL (G.) et MARTY (P.), Etude de l'influence des injections d'antigène méthylique pratiquées chez un certain nombre d'enfants tuberculeux. *Revue Tuberculose*, 5, août 1924, p. 534.
- BASSOLS (F.), Contribution à l'étude de l'antigène méthylique de Boquet et Nègre. *Thèse Fac. Méd.*, Mexico, 1928.
- BERNARD (L.), BARON (L.) et VALTIS (J.), L'antigène méthylique dans le traitement des adénopathies tuberculeuses. *Presse médicale*, 25 juin 1927, p. 801.
- BIDERMANN (A.), Recherches cliniques sur l'action de l'antigène méthylique dans les manifestations tuberculeuses et en particulier dans les adénites tuberculeuses. *Thèse Fac. Méd.*, Paris; Arneth éd., 1926.
- BLANCHOT, Sur l'antigène méthylique. XXIX^e Congrès français d'urologie. Paris, 8 octobre 1929.
- BLANKOFF (B.), Traitement des tuberculoses chirurgicales par l'antigène méthylique. *Revue Orthopédie*, 17, 1930, p. 538.
- BOQUET et NÈGRE, Recherches sur la valeur antigène des émulsions bacillaires et des extraits éthyliques et méthyliques de bacilles tuberculeux. *Ces Annales*, 25, mai 1921, p. 300.
- Sur les propriétés biologiques des lipoïdes du bacille tuberculeux. *Ces Annales*, 37, septembre 1923, p. 787.
- Essais de traitement de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye par l'antigène méthylique. *Ces Annales*, 39, février 1925, p. 101.
- *Antigénothérapie de la tuberculose par les extraits méthyliques de bacilles de Koch*. Masson édit. Paris, 1927.
- Action de l'antigène méthylique sur l'intoxication tuberculeuse expérimentale. *C. R. Soc. Biol.*, 101, 8 juin 1929, p. 442.
- CABOCHE (H.), Indications thérapeutiques dans la tuberculose laryngée. XL^e Congrès d'oto-rhino-laryngologie in *Archives oto-rhino-laryngologie*, 7, septembre-octobre 1928, p. 962.
- COURCOUX (A.) et BIDERMANN (A.), Traitement des adénites tuberculeuses par l'antigène méthylique de Boquet et Nègre. *Revue Tuberculose*, 7, juin 1924, p. 475.
- L'antigène méthylique de Boquet et Nègre dans le traitement des tuberculoses externes. *Journ. Méd. français*, 16, juin 1927, p. 244.
- GUINARD (L.), L'antigène méthylique comme adjuvant dans la thérapeutique de la tuberculose. *Presse médicale*, n^o 53, 4 juillet 1925.
- HALBRON et ISAAC GEORGES, Essais de traitement de quelques cas de lupus tuberculeux par l'antigène méthylique de Boquet et Nègre. *Revue Tuberculose*, juin 1924, p. 422.
- LORTAT-JACOB et BÉTHOUX, Traitement du lupus par l'antigène méthylique de Boquet et Nègre. *Revue Tuberculose*, 5, octobre 1924, p. 632.
- LORTAT-JACOB, BIDAULT, LEGRAIN et URBAIN, La réaction de fixation dans les tuberculoses cutanées. Action thérapeutique de l'antigène méthylique. *Ann. Dermat. et syphil.*, 9, octobre 1928, p. 841.

- MAGITOT (A.) et M^{lle} D'AUTREVAUX, Tuberculose oculaire traitée par l'antigène méthylique de Boquet et Nègre. *Soc. française d'ophtalmologie*, 16 mai 1928.
- MASSART (R.), L'antigène méthylique dans le traitement des tuberculoses osseuses, articulaires et ganglionnaires. *Gazette médicale de France*, 15 juin 1929.
- PHÉLIP (L.), Emploi de l'antigène méthylique dans la tuberculose urinaire. *Revue Tuberculeuse*, août 1928, p. 581.
- DE SANCTIS MONALDI, Action de l'antigène méthylique sur la formule leucocytaire des lapins tuberculeux. *C. R. Soc. Biol.*, 103, 15 mars 1930 p. 896.
- SIMPSON (J. Nathan) et ROBB SPALDING SPRAY, Un antigène pour le traitement de la tuberculose. Sa préparation et son emploi. *The West Virginia med. journ.*, 24, juillet 1928, n° 7.
- SOUCHET (A.), Quatorze cas de tuberculose du larynx traités par l'antigène méthylique de Boquet et Nègre. XVI^e Congrès français d'oto-rhino-laryngologie. Paris, 12 octobre 1928.

RÉSULTATS DE L'INOCULATION DE PRODUITS SUSPECTS DE TUBERCULOSE DANS LES GANGLIONS LYMPHATIQUES

par G. NINNI.

Dans trois précédentes notes (1), j'ai montré que la méthode la plus facile et la plus sûre pour mettre en évidence l'ultra-virus tuberculeux présent dans les cultures jeunes était l'*inoculation directe dans les ganglions lymphatiques cervicaux du cobaye* et la recherche des bacilles acido-résistants dans les frottis des ganglions prélevés huit à quinze jours après l'inoculation.

Encouragé par les résultats obtenus avec cette méthode très simple, je me suis demandé s'il ne serait pas possible de déceler la tuberculose en un plus bref délai ou plus sûrement, dans les produits pathologiques suspects, en inoculant ceux-ci dans les ganglions lymphatiques. On sait, par exemple, que pour affirmer la présence du bacille tuberculeux dans le pus, dans les liquides pleuraux, les liquides céphalo-rachidiens, il faut, lorsque l'examen microscopique a été négatif, se servir de l'épreuve biologique par inoculation sous-cutanée ou péritonéale. Or, cette épreuve ne donne de réponse qu'après cinq à huit semaines. Même alors, si l'on veut mettre en évidence des bacilles de Koch dans les ganglions satellites de l'aine avoisinant le point d'inoculation, il faut attendre dix-huit à vingt jours pour découvrir quelques bacilles dans les frottis de ces ganglions.

*
* *

Pour mon étude je me suis servi de produits très suspects de tuberculose, liquides pleuraux séro-fibrineux d'adultes (4),

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, 190, p. 597, mars 1930. *C. R. Soc. de Biol.*, 103, p. 841, mars 1930. *Giornale di Batteriologia*, vol. 5, Maggio 1930.

exsudat pneumonique d'enfant (1), liquide céphalo-rachidien de méningite (2), pus d'adénite suppurée (2), crachats de sujets cliniquement suspects de tuberculose (6) ou affectés de bronchectasie (1), selles purulentes d'entérite dysentérique (1), sécrétion purulente de lupus (1).

Dans aucun de ces produits l'examen microscopique, soigneusement exécuté, n'avait décelé de bacilles de Koch.

Avec chaque matériel suspect j'ai inoculé trois cobayes : 2 dans les ganglions lymphatiques symétriques du cou, avec 0 c. c. 1 du produit (naturel ou traité comme il est dit ci-après) et 1 cobaye par voie sous-cutanée avec le même produit à la dose de 2 cent. cubes.

Les liquides pleuraux et les liquides céphalo-rachidiens ne subissaient aucun traitement préalable. Le pus était dilué dans deux parties d'eau physiologique pour le rendre injectable ; les crachats et le pus d'entérite étaient mis à l'étuve à 37° pendant douze heures, comme le fait Valtis, et traités ensuite par l'acide sulfurique à 5 p. 100, en parties égales, pendant une demi-heure en agitant de temps en temps. On centrifugeait en lavant deux fois le culot avec de l'eau physiologique stérile. Enfin les crachats étaient dilués dans une égale quantité d'eau physiologique. En outre, pour les crachats et pour les selles, j'ai inoculé quelques cobayes par voie sous-cutanée et par voie intraganglionnaire, sans traitement préalable, par l'acide sulfurique.

Après huit jours, je prélevais chez un cobaye le ganglion inoculé pour rechercher le bacille de Koch dans les frottis colorés selon la méthode de Ziehl-Neelsen. Si l'examen microscopique était négatif après un examen de dix minutes, je recherchais les bacilles dans les ganglions inoculés, chez l'autre cobaye, douze jours après l'inoculation. Étant donné que cette méthode permet la conservation de l'animal après le prélèvement du ganglion, je laissais tous les cobayes en vie pour suivre la marche de l'infection et pour comparer celle-ci avec l'infection obtenue chez les cobayes inoculés par voie sous-cutanée.

Voici les résultats :

Après huit jours, on put trouver des bacilles de Koch pour 3 cas de pleurésie ; pour les deux cas de méningite, pour un cas d'adénite, et pour un échantillon de crachats.

Douze jours après on put déceler des bacilles pour l'autre cas d'adénite, pour deux crachats et pour le lupus.

La marche de l'infection a, d'une part, confirmé la nature tuberculeuse de tous les cas positifs à l'examen microscopique; d'autre part, elle a démontré l'absence de lésions tuberculeuses dans tous les cas où l'on ne découvrait pas de bacilles dans les ganglions prélevés huit à douze jours après l'inoculation intra-ganglionnaire.

L'ensemble des autres observations microscopiques a permis de mettre en évidence le bacille de Koch dans les frottis du ganglion inoculé, en général après huit jours pour les liquides pleuraux et pour les liquides céphalo-rachidiens tuberculeux. On trouve alors en quelques minutes des bacilles nombreux. Pour les pus, crachats, sécrétions de lupus, on ne trouve généralement des bacilles typiques qu'après douze jours.

Dans tous les cas (sauf pour le lupus où les bacilles ont toujours été rares), si, après des délais dépassant vingt à quarante jours après l'inoculation, on prélève le ganglion lymphatique inoculé directement et qu'on examine ses frottis, on trouve une quantité de bacilles de beaucoup supérieure à celle que renferme le ganglion de l'aine des animaux témoins inoculés par voie sous-cutanée. On peut dire que, *par l'inoculation intra-ganglionnaire, on obtient une vraie culture de bacilles de Koch « in vivo ».*

La marche de l'infection, comparée à celle que l'on obtient par inoculation sous-cutanée, a montré certaines particularités dignes d'être rapportées :

a) Lorsque le produit inoculé (crachats ou pus) n'était pas traité par l'acide sulfurique et qu'il contenait des microbes associés (colibacilles, staphylocoques, microcoques, tétragènes, pneumocoques, etc.), ceux-ci n'avaient aucune influence sur la marche de l'infection tuberculeuse, car ces microbes n'étaient plus décelables dans les ganglions inoculés après huit jours, alors que, seuls, les bacilles tuberculeux étaient présents. Par contre, lorsque l'inoculation avec les mêmes produits était effectuée par voie sous-cutanée, ceux-ci provoquaient toujours un abcès au point inoculé. Cette différence était très manifeste lorsqu'il s'agissait de matières fécales purulentes qui, évidemment, étaient très souillées. Cela signifie que les ganglions

lymphatiques détruisent ou éliminent aisément, par phagocytose ou par tout autre processus, les microbes pour lesquels le cobaye n'est pas réceptif et qui, dans le même temps, ne manifestent pas de tropisme pour les organes lymphatiques.

b) Lorsqu'on inocule par voie sous-cutanée un produit tuberculeux, et surtout des crachats, il se forme un chancre d'inoculation ainsi que je l'ai constaté dans mes trois cas, tandis que l'inoculation intra-ganglionnaire ne donne jamais de chancre d'inoculation, même après le prélèvement du ganglion et l'inévitable souillure de la peau.

c) Les ganglions lymphatiques inoculés, sauf dans le cas de lupus, sont perceptibles et atteignent entre le quinzième et le vingtième jour la grosseur d'un petit pois ou même davantage; ensuite ils grossissent encore jusqu'à la dimension d'une petite noisette. La tuberculose, chez les animaux ainsi inoculés, est très nette et évolue rapidement; en moins de trente jours les ganglions cervicaux, rétrosternaux, trachéo-bronchiques, axillaires, portaux, sont pris et sont franchement caséifiés, tandis que les ganglions lombaires se montrent microscopiquement indemnes; la caséification, surtout dans les ganglions inoculés, est diffuse. Mais, et c'est ce qui frappe le plus l'attention, on trouve sur la surface du poumon de nombreux tubercules grisâtres, tandis que la rate et le foie sont encore peu atteints.

Après quarante à cinquante jours, si les cobayes ne sont pas encore morts, on trouve le poumon presque entièrement couvert de tubercules grisâtres caséux, le foie et la rate bourrés de petits tubercules; tandis que, chez les cobayes inoculés avec le même produit par voie sous-cutanée, on ne trouve, à la même époque, que quelques tubercules sur le poumon; le foie et la rate contiennent de gros nodules tuberculeux, bien délimités au milieu du tissu sain.

Toutes les fois que j'ai attendu la mort des cobayes tuberculeux, la survie était toujours plus longue chez les cobayes inoculés par la voie sous-cutanée, bien que la quantité de produit inoculé fût dix fois supérieure à celle inoculée par voie ganglionnaire.

La preuve de la valeur de cette méthode a été surtout fournie par un cas de lupus. On sait que, pour déterminer expérimentalement des lésions tuberculeuses avec des produits lupiques,

il faut inoculer un fragment assez volumineux du tissu malade convenablement broyé et qu'on n'obtient ainsi, en général, que le développement de lésions bénignes évoluant avec lenteur, ne se manifestant que par une adénite au voisinage du point d'inoculation et ne se généralisant qu'après plusieurs mois ou même plus d'une année.

J'ai pu étudier un *lupus du nez*, traité tous les jours par cauterisation au nitrate d'argent et protégé par une gaze stérile. Lorsqu'on enlevait la gaze, on trouvait sur celle-ci une couche noircie par le nitrate d'argent et recouverte de pus. J'ai lavé cette gaze dans 3 cent. cubes d'eau en l'exprimant doucement et j'ai inoculé l'eau de lavage par voie intra-ganglionnaire à la dose de 0 c. c. 1 et à celle de 2 cent. cubes par voie sous-cutanée. Huit jours après, j'ai prélevé le ganglion dans lequel existaient quelques granules acido-résistants. Mais dans le ganglion du second cobaye, prélevé douze jours après l'inoculation, j'ai trouvé des amas de 5 à 10 bacilles acido-résistants typiques.

Un des cobayes inoculé par voie ganglionnaire et sacrifié après vingt-six jours présentait un notable engorgement des ganglions cervicaux et trachéo-bronchiques. Le volume de la rate était à peu près normal, mais, à la surface de celle-ci, on apercevait trois points blanchâtres de la grosseur d'une tête d'épingle, qui avaient l'aspect de petits tubercules. Dans les frottis du ganglion cervical et dans la rate, j'ai pu mettre en évidence quelques bacilles acido-résistants.

Après quarante-cinq jours, j'ai sacrifié l'autre cobaye qui avait été inoculé par voie ganglionnaire. Le ganglion de cet animal était de la grosseur d'un petit pois, sans caséification; les ganglions trachéo-bronchiques étaient un peu augmentés de volume; la rate trois fois plus grosse qu'à l'état normal, avec des tubercules grisâtres dans lesquels j'ai pu trouver aisément des bacilles acido-résistants; le foie était aussi augmenté de volume et portait une dizaine de tubercules punctiformes. Dans les ganglions inoculés, la recherche des bacilles a été fort laborieuse, mais il y avait de nombreuses granulations acido-résistantes, en amas. Les coupes histologiques de ces ganglions (que de Sanctis Monaldi a bien voulu examiner, ce pour quoi je désire lui exprimer mes remerciements) ne contenaient pas de tubercules typiques, mais des cellules épithélioïdes en amas;

elles montraient une vascularisation très accentuée, des hémorragies capillaires avec refoulement du tissu intraganglionnaire et une péri-adénite très marquée.

Le cobaye inoculé par voie sous-cutanée, sacrifié également après quarante-cinq jours, et qui n'avait présenté ni chancre d'inoculation, ni adénite locale, avait les organes apparemment sains.

Il ressort de ces expériences et de ces observations que :

1° Par l'inoculation intra-ganglionnaire de produits suspects de tuberculose, on découvre des bacilles de Koch dans tous les cas où l'épreuve biologique ordinaire révèle la tuberculose typique, et cela dans un délai plus court (de huit à douze jours après l'inoculation) que lorsque l'inoculation a été effectuée par voie sous-cutanée, bien que les doses injectées fussent 10 fois plus petites. Les bacilles apparaissent surtout nombreux dans les ganglions inoculés avec les liquides pleuraux et céphalo-rachidiens. 2° Le ganglion détruit les microbes inoffensifs ou peu pathogènes pour le cobaye et purifie ainsi le produit inoculé, tandis qu'il permet le développement et la multiplication des microbes à affinité lymphatique, comme c'est le cas pour le bacille de Koch. Il paraît même favoriser l'exaltation de la virulence de ce dernier, puisque nous avons vu que les lésions lupiques déterminent ainsi plus rapidement et plus sûrement des lésions tuberculeuses chez le cobaye.

*(Laboratoire de M. le professeur A. Calmette,
Institut Pasteur.)*

ISOLEMENT DU BCG DES GANGLIONS LYMPHATIQUES DE COBAYES VACCINÉS PAR INGESTION

par E. PIAZECKA-ZEYLAND (Poznan).

(Institut de Microbiologie de l'Université de Poznan,
Directeur : Prof. L. Padlewski.)

Nous avons précédemment décrit dans plusieurs notes publiées avec J. Zeyland dans ces *Annales* la méthode qui nous a permis de démontrer la présence et la persistance des bacilles BCG dans les ganglions des enfants vaccinés par ingestion pendant les dix jours suivant la naissance. Dans les cultures faites avec les ganglions de ces enfants, morts de diverses maladies non tuberculeuses, il a été possible de les isoler dans un tiers des cas.

Je me suis proposé de rechercher si cette culture était également possible en partant des ganglions lymphatiques des animaux de laboratoire vaccinés par ingestion.

Le passage des bacilles BCG à travers la paroi du tube digestif des cobayes nouveau-nés a déjà été démontré par les réactions tuberculiques par P. Nélis et van Boeckel (1), plus récemment par A. Saënz (2), et l'ensemencement a été mis en pratique par A. Boquet (3) pour prouver l'absorption des bacilles de la fiéole. Je me suis demandé s'il serait possible de faire la même démonstration, non seulement du passage des bacilles à travers l'intestin, mais aussi de l'arrêt et du séjour de ceux-ci dans les ganglions.

Je rapporterai d'abord mes observations concernant les cobayes nouveau-nés.

1° Cinq cobayes nouveau-nés, après un jeûne d'une heure, ont reçu *per os*, au moyen d'une pipette graduée, 10 milligrammes de BCG dans 0 c. c. 2 de liquide. Cette ingestion a été répétée trois jours de suite, la dose totale de BCG étant ainsi de 30 milligrammes. Ces cobayes ont été sacrifiés après

(1) P. NÉLIS et VAN BOECKEL. *C. R. Soc. de Biol.*, **99**, 1928, p. 1883.

(2) A. SAENZ. *C. R. Soc. de Biol.*, **102**, 1929, p. 1008.

(3) A. BOQUET. *C. R. Soc. de Biol.*, **96**, 1927, p. 176.

deux, trois ou quatre semaines, et le suc des ganglions cervicaux et mésentériques (tuméfiés) a étéensemencé sur milieu à

TABLEAU I. — Cinq cobayes sacrifiées deux à quatre semaines après l'ingestion de BCG.

NUMÉRO du cobaye	DATE de l'ingestion	DATE de la mort	INTRADERMO- RÉACTION	CULTURES
168/29	16, 18, 19 nov. 1929.	30 nov. 1929.	—	Sur dix tubesensemencés, neuf cultures positives.
169/29	16, 18, 19 nov. 1929.	7 déc. 1929.	—	Sur huit tubesensemencés, six cultures positives.
170/29	16, 18, 19 nov. 1929.	10 déc. 1929.	—	Sur dix tubesensemencés, trois cultures positives.
176/29	18, 19, 20 nov. 1929.	10 déc. 1929.	—	Toutes les onze cultures ont été positives.

l'œuf après avoir subi l'action de l'acide sulfurique à 6 p. 100 selon la technique de Löwenstein-Hohn. Toutes les cultures ont donné des colonies de bacilles acido-résistants. (*Tableau I.*)

2° Quatre cobayes nouveau-nés, après un jeûne d'une heure

TABLEAU II. — Quatre cobayes sacrifiées trois mois après l'ingestion de BCG.

NUMÉRO du cobaye	DATE de l'ingestion	DATE de la mort	INTRADERMO-RÉACTION	CULTURES
96/29	12, 13, 14, 16 août 1929.	19 nov. 1929.	9 oct. 1929 négative, 22 oct. 1929 positive, 13 nov. 1929, positive.	Sur huit tubesensemencés cinq cultures positives
99/29	12, 13, 14, 16 août 1929.	19 nov. 1929.	9 oct. 1929 positive, 28 oct. 1929 positive, 13 nov. 1929 positive.	Sur sept tubesensemencés cinq cultures positives.
101/29	12, 13, 14, 16 août 1929.	25 nov. 1929.	9 oct. 1929 positive, 22 oct. 1929 positive, 13 nov. 1929 positive.	Les huit cultures négatives.
104/29	12, 13, 14, 16 août 1929.	25 nov. 1929.	9 oct. 1929 négative, 22 oct. 1929 négative, 13 nov. 1929 positive.	Sur huit tubesensemencés une seule colonie.

et demie à deux heures et demie, ont reçu, au moyen d'une pipette, pendant cinq jours consécutifs, une masse totale de

30 milligrammes de bacilles. Ces cobayes ont été sacrifiés de dix à onze semaines après la vaccination. Tous réagissaient alors à l'intradermo-réaction tuberculinique. Les cultures des ganglions de trois de ces cobayes ont été positives, une seulement est restée stérile. (*Tableau II.*)

3° Huit cobayes nouveau-nés, vaccinés comme les précédents, ont été sacrifiés de cinq à six mois après la vaccination. Aucune culture des ganglions de ces cobayes n'a pu être obtenue.

TABLEAU III. — Huit cobayes sacrifiés
cinq à six mois après l'ingestion de BCG.

NUMÉRO du cobaye	DATE de l'ingestion	DATE de la mort	INTRADERMO-RÉACTION	CULTURES
98/29	10, 12, 13, 14 16 août 1929.	29 janv. 1930.	9 oct. 1929 négative, 22 oct. 1929 négative, 14 nov. 1929 dou- teuse, 18 janv. 1930 négative.	Les six cultures négatives.
100/29	10, 12, 13, 14, 16 août 1929.	29 janv. 1930.	9 oct. 1929 négative, 22 oct. 1929 douteuse, 13 nov. 1929 dou- teuse, 18 janv. 1930 négative.	Les six cultures négatives.
102/29	10, 12, 13, 14, 16 août 1929.	8 janv. 1930.	9 oct. 1929 négative, 22 oct. 1929 négative, 13 oct. 1929 positive.	Les huit cultures négatives.
103/29	10, 12, 13, 14, 16 août 1929.	29 janv. 1930.	9 oct. 1929 négative, 22 oct. 1929 douteuse, 14 nov. 1929 négative.	Les six cultures négatives.
111/29	16, 17, 19, 20, 21, 22 août 1930.	13 fév. 1930.	22 oct. 1929 négative, 13 oct. 1929 douteuse, 18 janv. 1930 négative.	Les six cultures négatives.
113/29	16, 17, 19, 20, 21, 22 août 1930.	31 janv. 1930.	9 oct. 1929 négative, 26 oct. 1929 négative, 13 nov. 1929 dou- teuse, 18 janv. 1930 négative.	Les six cultures négatives.
115/29	16, 17, 19, 20, 21, 22 août 1929.	8 janv. 1930.	9 oct. 1929 négative, 26 oct. 1929 douteuse, 14 nov. 1929 positive.	Les huit cultures négatives.
118/29	16, 17, 19, 20, 21, 22 août 1929.	31 janv. 1930.	12 oct. 1929 positive, 26 oct. 1929 négative, 13 nov. 1929 posi- tive, 18 janv. 1930 négative.	Les six cultures négatives.

Tous ces animaux, qui ont absorbé *per os* des doses massives de BCG, se sont régulièrement développés et l'état de leur santé était excellent, sauf pour un seul qui a succombé après un mois et qui n'a d'ailleurs présenté à l'autopsie aucune lésion tuberculeuse. (*Tableau III.*)

Ces expériences prouvent que les bacilles BCG passent à travers la paroi du tube digestif des cobayes nouveau-nés et que ces bacilles se localisent, au moins en partie, dans les ganglions cervicaux et mésentériques. Toutes les cultures faites en partant des ganglions des cobayes sacrifiés de deux à quatre semaines après l'ingestion du BCG ont été positives. Il apparaît

toutefois que, chez ces animaux, le temps de la survie du BCG dans l'organisme soit d'assez brève durée. J'avais déjà constaté ce fait dans mes expériences précédentes et ces recherches complémentaires le confirment, puisque, sur 4 cobayes sacrifiés trois mois après l'inoculation, je n'ai obtenu que trois cultures, quoique les 4 animaux aient présenté auparavant une réaction tuberculinique positive. On ne peut pas affirmer que le quatrième cobaye ne recelait pas un seul bacille vivant au moment de l'autopsie, mais ces bacilles étaient peut-être trop peu nombreux pour donner une culture, ou trop affaiblis pour résister à l'action de l'acide sulfurique. Les cobayes sacrifiés plus de cinq mois après l'ingestion de BCG n'ont fourni aucune culture. On peut donc supposer qu'à ce moment tous les bacilles BCG avaient été détruits ou éliminés. Voici maintenant ce que j'ai constaté chez les cobayes adultes :

Quatre cobayes adultes ont ingéré les mêmes doses dans les mêmes conditions que les cobayes précédents. Ils ont été sacrifiés de trois semaines à trois mois plus tard. La culture des ganglions d'un de ces cobayes, sacrifié neuf semaines après l'inoculation, a été positive. Les autres sont demeurées stériles.

Ces expériences tendent donc à montrer que le tube digestif des cobayes adultes est moins perméable que celui des cobayes nouveau-nés, ou que les bacilles qui ont traversé la muqueuse intestinale ne restent pas longtemps dans les ganglions.

Une partie seulement de ces cobayes vaccinés *per os* a été soumise aux intradermo-réactions tuberculiniques. J'ai pu ainsi constater qu'alors même que celles-ci étaient positives, l'ensemencement des ganglions pouvait être négatif.

La conclusion de mes recherches est que, chez le jeune cobaye à la mamelle, plus sûrement et plus régulièrement que chez le cobaye adulte, les bacilles BCG sont véhiculés à travers la muqueuse intestinale jusque dans les ganglions lymphatiques où on peut les retrouver par culture deux à quatre semaines après l'ingestion, moins constamment jusqu'à la dixième semaine, après quoi ils ne peuvent plus être mis en évidence, alors même que l'allergie tuberculinique persiste.

ESSAI SUR L'ÉTIOLOGIE DES TUMEURS.

par M. MARULLAZ (1).

Les résultats des recherches expérimentales sur le système nerveux dans les tumeurs du goudron font saisir toute l'importance qu'a cet appareil dans la néoplasie provoquée. Bien qu'il existe de nombreuses distinctions à faire entre les produits de la dégénérescence maligne spontanée et ceux que l'on obtient au laboratoire, on peut tirer parti de l'analogie qu'ils présentent et essayer d'interpréter la cause des phénomènes naturels par la même argumentation que celle qui paraît convenir à l'étiologie des néoplasmes artificiels.

Par ses travaux sur la régénération des membres amputés chez le *Triton cristatus*, P. Weiss est arrivé à démontrer que la reconstitution parfaite des parties supprimées dépend d'une action exercée par le système sympathique, qu'il dénomme *gestaltungstonus* et qu'il considère comme l'équivalent de certaines propriétés du noyau des protozoaires. L'existence de ce *tonus d'évolution*, coordinateur biologique des éléments en période d'organisation, a aussi été envisagée par H. Nasse dans ses recherches sur les conséquences de la section des nerfs pour la nutrition et l'agencement du tissu osseux chez le chien, et par Bier dans ses études sur la régénération et la transplantation des os chez l'homme.

D'autre part on sait qu'il existe une relation entre le système nerveux et les tumeurs ; les recherches expérimentales de Itchikawa et Kotsareff, de Rémond, Bernardbeig et Sendrail, l'ont mise en évidence en attirant l'attention sur le caractère du rôle joué par le sympathique dans l'évolution des néoplasies, et j'ai pu moi-même les confirmer.

On sait maintenant que dans les tumeurs du goudron les

(1) La Rédaction de ces *Annales* a reçu ce mémoire quelques jours avant la mort subite de M. Marullaz qui fut, pendant de longues années, pour la maison de Pasteur, un collaborateur précieux et un fidèle ami.

altérations des cylindres-axes marchent de pair avec leur évolution. Par l'emploi de sels de magnésium dont l'action sur les terminaisons nerveuses est expérimentalement connue, on peut ralentir, entraver ou même empêcher complètement la production des néoplasmes, et on observe dans ces conditions que les cylindres-axes conservent leur aspect normal après imprégnation à l'argent.

Rien ne paraît s'opposer à ce que l'on applique à l'étiologie des tumeurs spontanées les notions acquises par les recherches expérimentales.

L'anarchie cellulaire qui caractérise le cancer dépend de la modification de l'action de tout régulateur biologique des tissus et des éléments qui les composent. Charcot avait déjà indiqué que la suppression pure et simple de toute connexion d'un organe avec le système nerveux central ne suffit pas à causer la désorganisation des tissus, il faut que la fonction nerveuse ait été pervertie. Les travaux qui viennent d'être mentionnés démontrent que l'intégrité de l'appareil nerveux est nécessaire pour la conservation et la manifestation du facteur de la *trophicité* normale, *gestaltungs-tonus* ou *tonus d'évolution*, de Weiss, — cet auteur le faisant dépendre plus spécialement du sympathique — et qu'à la néoplasie correspond une altération des cylindres-axes.

Actuellement on admet une relation entre le traumatisme et la néoplasie. Sous le nom de traumatisme on peut ranger toutes les injures faites à l'organisme par le moyen d'un agent chimique — cancers professionnels, cancer des ramoneurs, des ouvriers du goudron et de ses dérivés, etc., — ou physique — cancer des radiologues, cancer par brûlures et autres — ou mécanique — par coup ou par choc; — à côté de ces traumatismes qui correspondent à la conception ordinaire que l'on a du phénomène, on peut ranger l'action de l'inflammation chronique, dans son acception la plus étendue, ce qui permet de considérer, par exemple, le cancer de l'estomac remontant à un ulcère peptique comme relevant d'un traumatisme. L'étiologie vermineuse n'est au fond qu'une forme de l'étiologie traumatique et dans certains cas elle est indiscutable.

Si l'on essaie de classer les tumeurs en se basant sur leur cause, on est amené à en faire trois groupes : le premier où

l'on peut toujours, en dernière analyse, reconnaître un traumatisme initial, faible ou fort, exogène ou endogène (cancer du pylore sur ulcère), le deuxième, qui comprend les néoplasies d'apparence spontanée — car rien dans leur histoire ne permet de relever un traumatisme quelconque à leur origine — et le troisième dans lequel on fera rentrer les formations dépendant de l'évolution maligne d'éléments ne faisant pas partie intégrante de l'organisme par leur provenance ou leur nature (dysembryomes, tumeurs placentaires, etc.).

Le traumatisme, cause déterminante de néoplasmes, a été déjà étudié. Blumenthal lui attribue moins d'importance qu'à ses suites; une inflammation nécrotique n'est pas nécessaire au développement d'une néoplasie, des modifications inflammatoires à longue échéance suffisent. La tumeur ne se forme pas nécessairement au point traumatisé; elle peut naître en tout endroit où les suites du processus peuvent se faire sentir, les recherches expérimentales par goudronnage de l'oreille du lapin le prouvent abondamment. En considérant le cancer comme une maladie de cicatrices, A. Lumière se rapproche de cette manière de voir; lui aussi attribue au caractère ancienneté un rôle important, à la condition que les phénomènes cicatriciels aient été de longue durée, que même il y ait eu traumatisation secondaire ou répétée et que, de plus, les liquides humoraux du sujet atteint de néoplasie contiennent les substances dont la multiplication cellulaire a besoin pour se manifester.

Le facteur traumatisme, de quelque nature qu'il soit, paraît agir sur les tissus qu'il affecte de la même manière que la manipulation expérimentale. On sait que la presque totalité des éléments de l'organisme sont sous le contrôle immédiat du système nerveux et qu'ils sont reliés aux centres par les dernières expansions de cet appareil. L'effet du goudronnage est tel qu'au moyen de l'imprégnation à l'argent on n'arrive plus à faire apparaître les cylindres-axes alors que la myéline ne présente pas de modification. Il n'est pas invraisemblable qu'à la suite du trouble profond que Lumière juge nécessaire pour entraîner la formation d'un néoplasme le tissu nerveux soit lui-même lésé. L'intégrité des relations entre les parties atteintes et les centres qui les régissent se trouve altérée de ce fait, modification qu'on peut placer parallèlement à celle qui résulte d'une

application hebdomadaire de goudron. Toute connexion n'est pas supprimée, ce qui devrait amener une atrophie pure et simple des tissus en question, mais plausiblement seulement modifiée, puisque par le chlorure de magnésium on peut, dans certains cas, faire réapparaître l'affinité des cylindres-axes pour l'argent, et la perversion de la coordination nerveuse dont parle Charcot serait ainsi réalisée. Les éléments soustraits au contrôle régulateur central prennent un développement anormal; on peut s'en rendre compte encore expérimentalement comme j'ai déjà eu l'occasion de l'exposer.

Actuellement je possède un second cas encore plus démonstratif.

Lapin cage 33, goudronné pendant vingt-deux mois à la face externe de l'oreille droite, présente un placard d'épaississement atteignant jusqu'à 7 millimètres de hauteur et intéressant les deux faces de cet organe; sous le goudron se sont développées des papules de 3 millimètres à 4 millimètres de diamètre, en général aplaties, à surface lisse; quelques-unes, à la pointe même de l'oreille, ont conflué et forment une masse arrondie, grosse comme une merise, recouverte d'une production papillomateuse cornée. Au microscope, on voit que l'épaississement affecte aussi bien la face interne, qui n'a jamais été en contact avec le goudron, que la face externe. Le tégument n'offre aucune trace d'érosion ou d'ulcération, pas même d'infiltration.

Les diverses couches de l'épiderme ont un aspect normal. Par contre, les glandes sébacées des poils rudimentaires sont nettement hypertrophiées et allongées, toujours sans aucune infiltration périphérique. Le tissu conjonctif du derme et les couches sous-jacentes allant jusqu'au périchondre sont fortement hypertrophiées; autour des noyaux glandulaires descendant dans la profondeur, les faisceaux conjonctifs disposés circulairement sont simplement un peu œdématiés, tandis que le reste des éléments connectifs offre le tableau d'une activité cellulaire désordonnée. On n'y trouve pour ainsi dire plus de substance collagène et de très rares petits foyers d'infiltration leucocytaire; la masse se compose d'un tissu conjonctif coloré en rouge par la fuchsine de la liqueur de Van Gieson, délimitant de nombreuses fentes lymphatiques tapissées par un endothélium abondant et tout à fait polymorphe; on y voit des cellules très aplaties, à noyau sombre et homogène, et à protoplasme peu évident et d'autres plus nombreuses offrant tous les degrés de transition, jusqu'à des cellules cubiques ou même cylindriques, à noyau globuleux, avec un protoplasme plus ou moins granuleux teinté en brun rougeâtre, formant des chapelets ou des amas dissociant la nappe connective et donnant ainsi à l'ensemble un aspect nettement cancéreux.

Cette métaplasie de l'endothélium des espaces lymphatiques est aussi marquée d'un côté de l'oreille que de l'autre; on peut voir le raccordement des formations histologiques de ce processus à travers les trous du cartilage, sans pouvoir dire sur quelle face se trouvent les manifestations les plus accusées. Les cylindres-axes n'apparaissent pas après traitement par le procédé de Bielschowski, seule la myéline des nerfs rachidiens reste visible en ayant conservé tous ses caractères normaux.

Il y a sans doute une échelle de degrés dans la perversion de la fonction nerveuse coordinatrice du développement régulier et de l'organisation des diverses parties constituant les tissus; on s'explique ainsi la genèse de toutes les variétés de tumeurs, de la plus bénigne à la plus maligne, la néoplasie dépendant du résultat de la lutte de forces qui normalement se trouvent en équilibre, puissance d'expansion végétative des éléments cellulaires et contrôle directeur de cette expansion, *gestaltungs-tonus* de Weiss, relevant du système sympathique selon toutes probabilités.

Expérimentalement on pratique la « traumatisation » d'un secteur de l'oreille de lapin, par exemple, dans des conditions nettement déterminées, en s'adressant à des tissus sains, appartenant à un organisme normal qui se maintient en état de santé; néanmoins on peut, avec le temps, arriver à produire des tumeurs possédant tous les caractères de la malignité et à marche lentement envahissante, ne franchissant que très exceptionnellement la barrière constituée par les ganglions nerveux de la base de l'oreille. Même dans certains cas on observe, en amont de la partie badigeonnée, mais en territoire non goudronné, le développement de papillomes qui sont susceptibles d'acquérir la malignité la plus complète. Ce phénomène correspond à la conception de Blumenthal lorsqu'il indique qu'une tumeur n'éclôt pas nécessairement au siège du traumatisme, mais qu'elle peut se former en tout lieu où la répercussion du « trauma » se fait sentir. Ce retentissement ne se manifeste pas toujours d'emblée, mais parfois seulement après des semaines pendant lesquelles toute manipulation a été supprimée. Si l'on conçoit que la direction des tissus s'exerce par l'appareil nerveux, on peut se représenter que l'altération de ce système n'est pas immédiate et localisée au seul foyer du traumatisme, mais que ce n'est que par la répétition prolongée de la pratique expérimentale, ou seulement longtemps après son application, que se produit la modification du conducteur du réflexe de coordination et d'évolution. Ainsi on s'explique l'apparition tardive de la tumeur à laquelle on ne reconnaît d'autre cause que le traumatisme du goudronnage. L'étiologie et la pathogénie de la dermatite des radiologues et sa dégénérescence maligne — que l'on a du reste déjà maintes fois com-

parée aux lésions expérimentales obtenues par le goudron — deviennent facilement compréhensibles par ce raisonnement. On peut ajouter que l'altération du conducteur nerveux, qui est la base de ces manifestations pathologiques, se propage en certains cas par voie ascendante, et qu'en conséquence on assiste à une dégénérescence maligne centripète, d'un bras par exemple, qui nécessite toute une série d'amputations d'où résultent des mutilations de plus en plus importantes et sans qu'il y ait suppression de la douleur, jusqu'au moment où le processus pathologique causal finit par atteindre les centres eux-mêmes de la vie végétative et les mettre hors fonction.

*
* *

Les néoplasies ne peuvent pas être toutes attribuées à un traumatisme initial. Il est cependant vraisemblable que les tumeurs, dont l'étiologie traumatique ne saurait être admise d'aucune manière, relèvent d'une cause du même ordre que les précédentes. Les expériences de Spéranski mettent en évidence le rôle du système nerveux dans les tumeurs viscérales; cet auteur démontre également que ce n'est pas la suppression, mais la perversion de la connexion nerveuse qui est nécessaire à la production d'un néoplasme, ce qui était déjà la manière de voir de Charcot; et il conclut que l'appareil nerveux est non seulement intéressé plus ou moins passivement dans tous les processus pathologiques locaux, mais que fort souvent il les commande. L'altération indispensable de la coordination nerveuse peut avoir son point de départ soit à l'extrémité terminale du nerf de la région intéressée, soit dans son noyau d'origine dans les centres.

L'ulcère gastrique pourrait être pris pour prototype des modifications de la première catégorie. Si on admet avec M. Renaud que l'*ulcus rodens* est l'aboutissant d'un processus inflammatoire profond primitif de la paroi stomacale, que vient compléter une lésion superficielle érosive, on se rend compte facilement que là se trouvent réalisées des conditions parfaitement comparables à celles qui découlent d'un traumatisme. Le travail scléro-inflammatoire a fatalement, dans les tissus qu'il affecte, une répercussion sur les nerfs dont la fonction se trouve ainsi

pervertie, ce qui conduit à la dégénérescence maligne des parties qu'ils auraient dû maintenir dans la norme biologique. Les cas sont nombreux où l'on peut faire valoir les mêmes considérations : prostatite chronique, cholélithiase, caverne pulmonaire, etc.

Il y a donc lieu d'élargir considérablement le sens du mot « traumatisme » et de ne plus le considérer uniquement comme le produit d'une injure exogène, mais de l'appliquer aussi à toute altération grave, même endogène, pouvant conduire à la formation de cicatrice, histologiquement parlant. Ainsi se trouve justifiée la conception d'A. Lumière qui appelle le cancer « maladie des cicatrices ».

Mais si toutes les cicatrices peuvent conduire à la cancérisation, on ne peut dire qu'à l'origine de toute néoplasie on découvre un processus cicatriciel. Il existe toute une catégorie de tumeurs dont l'histoire ne repose sur aucun traumatisme, même si l'on prend ce mot dans son acception la plus étendue. Les recherches de Spéranski ont une valeur particulière à leur sujet. Elles font saisir toute l'importance du facteur perversion de la fonction nerveuse. Si l'on ne peut concevoir dans leur cas l'influence d'un processus quelconque, présentant la moindre analogie avec ceux qui caractérisent les suites d'un traumatisme, il faut chercher l'origine de l'altération nécessaire dans l'organe même où elle siège, et l'on arrive à admettre que les perturbations de la fonction nerveuse résultent d'une modification de la portion terminale d'un cordon nerveux, ce que l'on peut comparer à ce que l'on voit chez un arbre dont une branche commence à se dessécher à la périphérie. L'altération distale du début gagne progressivement les centres en remontant le conducteur nerveux, phénomène semblable à celui qui donne aux cancers par rayons X une marche ascendante, et ceci explique aussi la récurrence après l'exérèse d'une tumeur primitive, qui se forme dans le champ opératoire.

Cette altération de la portion terminale d'un cordon nerveux est vraisemblablement due, dans de nombreux cas, à son imperfection congénitale puisque les tumeurs se développent aussi chez les êtres jeunes — l'exubérance de ces néoplasies s'explique par la jeunesse des tissus d'où elles proviennent, éléments d'une vitalité et d'une tendance à l'expansion bien

plus grandes que ceux d'individus d'un certain âge — mais elle peut être aussi acquise sous l'action néfaste des processus pathologiques qui n'ont pour ainsi dire jamais manqué de se développer, une fois ou l'autre, chez l'être même le plus sain en apparence. Il est également plausible de la considérer comme une manifestation de sénilité qui frappe d'abord l'extrémité du cordon nerveux le long duquel elle remontera progressivement vers les centres. Cette conception donne une explication satisfaisante de la constatation universellement admise que la proportion des cancers croît avec l'âge des individus considérés, et que la récidive en est fréquente, même après les opérations les mieux exécutées.

Pour les dysembryomes, on se représente facilement les raisons de l'imperfection de leur connexion nerveuse avec les centres — car ces formations ont pour point de départ des éléments qui n'appartiennent pas en propre à l'organe où elles siègent — et que cette imperfection conduit facilement à la perversion, condition de dégénérescence maligne du germe primitif. Si, au cours des remaniements qui se succèdent durant le développement de l'embryon, cet élément est resté en place et finalement a formé partie intégrante de l'organe où il vit, il se comporte alors de la même manière qu'une tumeur vraie d'un des composants de l'organe, tout en manifestant souvent plus d'exubérance et surtout en évoluant plus tôt dans la vie de son porteur. Mais le fragment embryonnaire peut aussi avoir été entraîné, déplacé, sans pour cela offrir des caractères évolutifs bien différents. Quant aux tératoïdes kystiques ils se conduisent fréquemment comme de simples corps étrangers ; leur dégénérescence maligne, qui aboutit parfois à la production d'un épithélioma pavimenteux lobulé, ne se révèle que par l'augmentation rapide mais pas toujours excessive, du volume d'un kyste dermoïde jusqu'alors insoupçonné parce que totalement silencieux ; l'extirpation en est facile ; leur bénignité les caractérise, si on ne leur laisse pas le temps de provoquer, dans les tissus qui les englobent, des processus cicatriciels dont la conséquence est la néoplasie, suivant la conception d'A. Lumière.

Il y a encore les dysembryomes placentaires comme le chorio-épithéliome, dont la môle hydatique est le type bénin. Là il n'y a plus aucune connexion nerveuse avec les centres ; on peut

considérer ces productions comme de simples cultures et leur allure hyperplasique désordonnée s'explique par la vitalité des cellules plasmodiales dont elles dérivent, et leur confère une malignité particulière.

Un des caractères cliniques importants de la tumeur maligne est la récurrence fréquente, même après l'exérèse chirurgicale la plus soignée. Si l'on place le processus néoplasique sous la dépendance du système nerveux, le phénomène s'explique aisément. En extirpant une tumeur aussi largement que possible, pour enlever tout tissu sain d'apparence pouvant donner lieu à la moindre suspicion, on ne supprime pas entièrement l'appareil nerveux qui reliait les parties malades aux centres qui les régissaient. Par la persistance de la cause de l'altération fonctionnelle de ces nerfs, l'effet connu se reproduira, aboutissant à la récurrence tumorale dans leur territoire. Les productions malignes secondaires, que l'on désigne sous le nom de métastases régionales, relèvent d'un processus analogue; elles sont les manifestations nouvelles de la perturbation nerveuse qui a causé la néoplasie primitive, dont elles représentent l'extension, tandis que les métastases lointaines résultant du transport à distance d'éléments tumoraux, par voie sanguine ou lymphatique, sont les produits du développement des semis ainsi réalisés, développement parfois si exubérant qu'il arrive à éclipser pour ainsi dire complètement les manifestations de la tumeur primitive.

La douleur est un des symptômes capitaux de la néoplasie. Avant même que l'on puisse constater l'existence matérielle d'une prolifération quelconque, elle fait présumer une anomalie de l'appareil nerveux, dont la réalité a été révélée par de nombreuses observations microscopiques faites sur des oreilles de lapins soumis au goudronnage aux fins d'obtenir des tumeurs expérimentales; ce n'est que notablement plus tard que l'on peut l'attribuer aux troubles dus à l'hyperplasie en cause. Et l'on est en droit de se demander si les souffrances souvent intolérables du cancer ne sont pas dues à la persistance et à l'aggravation de l'altération primitive des nerfs plutôt qu'aux actions nuisibles de la tumeur sur les tissus qu'elle affecte et sur ceux qui l'entourent, compression, tiraillements, gêne circulatoire, etc. Expérimentalement l'exaspération de la sensibi-

lité est une conséquence précoce du goudronnage ; elle apparaît avec les premières altérations du tégument qui précèdent l'hypertrophie folliculaire, et elle est constamment suivie de formations papillomateuses ; on la voit s'aggraver avec le développement des néoformations, puis s'atténuer, sans toutefois disparaître complètement, avec leur évolution maligne. C'est une des particularités cliniques de l'état précancéreux. On peut voir en elle une démonstration de l'action qu'exerce le goudronnage sur l'appareil nerveux, action qui se traduit par l'épaississement des cordons neuro-vasculaires de l'oreille, qui deviennent faciles à reconnaître à la palpation.

Cette intervention des éléments nerveux se révèle encore précocement d'une autre manière. Si l'on goudronne la face *interne* de la pointe d'une oreille de lapin, au bout de peu de temps, et avant toute modification du tégument de la partie badigeonnée, la peau de la face externe devient sèche, rugueuse, squameuse, et on constate que, régulièrement, les mêmes altérations existent — bien que moins prononcées — *symétriquement sur la face externe* de l'oreille non traitée, ce qui éveille l'idée d'une analogie étiologique avec l'affection dénommée « ophtalmie sympathique ».

L'évolution d'un néoplasme expérimental ne permet pas de douter de sa dépendance de l'appareil nerveux. Après l'apparition de l'hypertrophie folliculaire, on voit se former des nodules véritablement malins dans la région traitée, et dans la majorité des cas il se développe des formations épithéliales en tous points semblables à celles qui résultent du goudronnage, à distance, en territoire qui n'a jamais été badigeonné, même sur la face opposée, et régulièrement implantées sur le trajet d'un cordon neuro-vasculaire. La présence de ces métastases régionales démontre bien qu'il s'agit de tumeur maligne, car, ainsi que Renaud et Nyka l'ont exposé, un tel processus de développement est spécifique du cancer et n'appartient qu'à lui seul. Les néoplasies diffèrent cependant de celles que considèrent ces auteurs en ce sens que les groupements cellulaires dont ils parlent ne sont pas ici les émanations directes du nodule tumoral primitif, mais doivent leur existence à la manifestation ultérieure et en de nouveaux points d'application de la cause de l'épithélioma de la pointe de l'oreille. Exceptionnellement,

cette action pathogène conduit à la métaplasie des cellules endothéliales des espaces lymphatiques et à l'hyperplasie de tous les tissus de l'oreille ou même à la dégénérescence maligne de la parotide du même côté que la partie traitée.

Les nodules métastatiques apparaissent sous la forme de papillomes cornés; quelques-uns d'entre eux peuvent disparaître sans laisser de trace, et d'autres persister en conservant leur caractère bénin. Mais la bonne moitié, en grandissant, deviennent malins et se développent comme des noyaux épithéliomateux, jusqu'à épuisement de la capacité de prolifération des cellules dont elles dérivent, puis fondent par nécrose et ne laissent comme trace qu'une perte de substance circulaire dont les bords sont formés de tissus normaux et sans aucun vestige d'inflammation.

Il y a eu ainsi séquestration des parties en dégénérescence — ce dernier processus dépendant d'une altération nerveuse — par des tissus sains à innervation normale. C'est la raison de la bénignité du kyste dermoïde cancéreux — qui n'a aucune connexion directe avec les centres — situé en tissus normaux. Les métastases régionales, chez les animaux en expérience, sont la résultante de l'altération de l'appareil nerveux d'un fragment de tissu qui évolue anormalement dans un milieu qui est resté normal. Le processus néoplasique est le même que celui de la tumeur spontanée, mais au lieu d'affecter une région qui ne fera que s'agrandir en tache d'huile, à moins qu'une intervention bien comprise ne supprime tous les éléments susceptibles d'en être atteints, il n'intéresse que des parties strictement délimitées qui ne peuvent s'agrandir que de leur propre fonds, englobées qu'elles sont dans des tissus qui n'ont pas été touchés par l'action nocive du goudron sur les éléments nerveux. Ceci fait comprendre le caractère du néoplasme artificiel qui reste relativement bénin cliniquement, alors qu'anatomiquement il possède la malignité d'une tumeur spontanée.

A l'examen on doit reconnaître au goudronnage un double effet. Premièrement, celui qui résulte de ses propriétés kératoplastiques utilisées en pratique dermatologique, auxquelles on doit l'épaississement de la couche cornée du tégument, l'hyperthrophie folliculaire, la formation de papillomes cornés, qui ne se produisent pas sans modifications vasculaires ni sans

altérations de la sensibilité; secondement, celui qui se manifeste ultérieurement par la formation de nodules de prolifération atypique dans les zones d'hypertrophie folliculaire ou en dehors et à distance de tout goudronnage, nodules qui en s'agrandissant prennent une allure maligne et finissent par confluer en un seul épithéliome. Cette néoplasie maligne s'accompagne de l'hyperplasie plus ou moins bénigne des différents tissus de la partie atteinte. A la longue elle s'étend au voisinage et se complique de métaplasie d'éléments qui n'ont pas un caractère immuable, comme les cellules endothéliales des espaces lymphatiques, qui peuvent alors proliférer et former un lymphangioendothéliome de la partie de l'oreille non traitée. Cet effet hyperplastique à distance ne se constate pas seulement durant le goudronnage, mais on le note aussi plusieurs semaines après suspension de l'opération et élimination de tous ses vestiges, ce qui implique le nécessité de la persistance de l'action du goudronnage, dont l'effet ne se révèle ainsi que tardivement.

L'observation attentive fait ressortir un rapport étroit, du point de vue matériel, entre les tumeurs et le système nerveux, surtout pour les métastases régionales qui ne représentent qu'une forme de l'extension de la néoplasie. En étudiant par transparence une oreille de lapin, on en discerne facilement le réseau vasculaire, dont les mailles sont assez lâches, et par le même procédé on voit dans la grande majorité des cas que les néoformations dues au goudronnage siègent sur un de ses rameaux, sur lequel elles sont du reste parfaitement mobiles au début, bien que paraissant faire corps avec lui.

L'aisance avec laquelle on obtient des tumeurs artificielles par le goudronnage de l'oreille de lapin paraît dépendre de l'innervation spéciale de cet organe, qui est peu serrée et terminale, excluant ainsi la possibilité de la compensation des perturbations fonctionnelles de certaines branches par des rameaux vicariants. Cette conception paraît entièrement justifiée par la réaction que produit le badigeonnage d'autres parties du corps, de la région mammaire par exemple, où la méthode employée avec succès pour l'oreille ne produit que très lentement des lésions plus avancées que la simple hypertrophie folliculaire du tégument. Il est de même pratiquement impos-

sible de provoquer des altérations définitives sur la peau de la tête du rat blanc pris à la naissance.

Il y a encore un phénomène qui met en évidence la participation de l'élément nerveux. Dans les cas d'évolution prolongée d'une néoplasie, comme celles qui envahissent progressivement l'oreille et la mutilent en s'accompagnant de métaplasie de l'endothélium des espaces lymphatiques ou de métastase parotidienne, l'animal maigrit, s'émacie profondément, arrive à perdre la moitié de son poids, bien que conservant bon appétit; à mesure que cet état s'accroît la polydipsie augmente au point qu'un de nos lapins absorbait avidement de l'eau physiologique et buvait même plus d'un décilitre d'eau par jour, outre sa ration quotidienne de fourrage vert. A l'autopsie de ces animaux on constate l'existence d'une altération très nette de la capsule surrénale du même côté que l'oreille malade; la substance noble de la couche corticale particulièrement est en voie de destruction et remplacée par du tissu scléreux, voire calcifié, le poids de la glande peut être ainsi réduit de moitié. Ces observations viennent corroborer celles faites par Sokoloff aux États-Unis et celles d'Arloing, Josserand et Charachon de Lyon.

*
* *

L'application à l'étiologie des tumeurs naturelles des enseignements que l'on peut tirer de l'étude du cancer expérimental fait voir le rôle capital de l'élément nerveux dans la formation de la néoplasie. Plusieurs travaux font présumer que c'est à l'appareil sympathique qu'appartient la prépondérance en ce domaine, sans toutefois en apporter la preuve décisive. C'est pourquoi il n'est ici question que de l'élément nerveux, sans distinction spécifique, les réactions microscopiques qui ont démontré les altérations des cylindres-axes ne permettant pas de discerner leur catégorie.

Si les ressources actuelles constituent, pour qui sait les utiliser, des moyens thérapeutiques efficaces, la lutte contre le cancer peut et doit être préventive; elle apparaît comme devant avoir pour objet de renforcer le bon fonctionnement de l'appareil coordinateur de l'évolution biologique des éléments qui

constituent l'organisme, résultat que l'on obtient du moins en partie par des voies médicamenteuses et que l'on obtiendra sans doute mieux en s'inspirant des méthodes suivies en zootechnie pour créer des races rustiques, prolifiques, destinées à remplacer celles qui présentent des signes d'abâtardissement, de même que par l'élevage on est parvenu à créer des souches à tumeurs dans des espèces qui en sont pratiquement indemnes à l'état normal.

BIBLIOGRAPHIE

- ARLOING, A. JOSSEMAN et J. CHARACHON. *Bull. Acad. de Médecine*, Paris, 25 février 1930.
- BIER, Ueber Regeneration, etc. *Verhandl. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Aerzte*, 87. Vers., Leipzig, 1922.
- BIER, Ueber Knochenregeneration, *Zeisch. f. klin. Chirurgie*, **127**, 1923.
- BLUMENTHAL, Trauma und bösartige Geschwulstbildung. *Med. Klinik.*, n° 7, 1908.
- BORREL (A.). *Ces Annales*, **42**, n° 3, 1928; *Report of the internat. conference on Cancer*, London, 1928.
- FIBIGER. Congrès du cancer, Strasbourg, in *Journ. radiol. et électrol.*, **7**, 1923, p. 413.
- HERZOG. *Zeisch. f. Neurolog. u. Psych.*, **103**, Heft 1/2, 1926.
- HERZOG. *Virch. Arch.*, **268**, 1928, p. 536.
- ITCHIKAWA, BAUM, UWATOKO. *Bull. Assoc. franç. cancer*, **13**, 1924.
- ITCHIKAWA, KOTSAREFF. *Ibid.*, **14**, 1925.
- LUMIÈRE (A.), Le Cancer, maladie des cicatrices. Masson, édit. Paris, 1929.
- MARULLAZ. *Ces Annales*, **42**, décembre 1928. *Ibid.*, **43**, mai 1929; *Ibid.*, **44**, avril 1930; *Bull. Acad. de Médecine*, Paris, **102**, n° 27, 16 juillet 1929; *Ibid.*, **103**, n° 5, 4 février 1930; *Bull. Assoc. franç. cancer*, **19**, 1930.
- NAKAMOTO, KWANJI. *Zisch. f. Krebsforsch.*, 28 mai 1929.
- NASSE. *Pflügers Archiv.*, **23**, 1880.
- RÉMOND, BERNARD BEIG et SENDRAIL. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, **91**, 1925, p. 1063.
- RENAUD (M.). *Bull. Soc. Méd. Hôp.*, Paris, 4 février 1929.
- RENAUD et NYKA. *Bull. Assoc. franç. cancer*, **15**, 1926.
- SLYE MAUD. *Journ. of Americ. Medic. Association*, 1926, p. 1599.
- SPERANSKI. *Ces Annales*, **43**, novembre 1929.
- WEISS (P.). *P. Arch. f. mikr. Anat. u. Entwicklungsmechanik*, **104**, 1925, p. 317.

L'ENCEPHALO-MYÉLITE ENZOOTIQUE EXPÉRIMENTALE (MALADIE DE BORNA)

(TROISIÈME MÉMOIRE)

par S. NICOLAU et I. A. GALLOWAY.

Dans notre précédent travail publié dans ces *Annales* nous nous sommes occupés des propriétés du virus encéphalo-myélitique, et de l'action de certains facteurs sur sa virulence. Dans le travail présent, nous envisagerons d'autres données : l'action pathogène du germe sur les animaux d'expérience; les modifications histologiques provoquées par le virus dans l'organisme animal, surtout dans les cas des « neuroinfections auto-stérilisées » qui ont permis la survie ou qui ont abouti à la mort des animaux infectés; l'étude de la microglie dans la maladie mortelle (1) et l'immunité.

I. — Action pathogène du virus sur les animaux d'expérience.

1. Singe. — Dans des travaux publiés en 1927 (2), nous avons été les premiers à montrer que le virus de la névraxite enzootique inoculé dans le cerveau des singes reproduit la maladie (3). Les animaux (*Macacus rhesus*) succombent avec les symptômes que nous avons décrits ailleurs (4). Nous

(1) Etude faite dans notre laboratoire par Bratiano et Lombard.

(2) NICOLAU, Nevraxia enzootica. *Revista Medico-chirurgica d. Iassy*, 38, 1927, p. 389-420, 499-536 (cet article a été reçu à la rédaction de la revue mentionnée, le 10 juillet 1927, et a paru dans deux numéros consécutifs : celui du mois d'octobre et celui du mois de décembre).

(3) NICOLAU et GALLOWAY. *British J. of Exp. Path.*, 8, 1927, p. 336 (cette note, reçue à la rédaction le 19 juillet, a paru le 15 août de la même année).

(4) NICOLAU et GALLOWAY, Borna Disease, etc. Stationery office, Londres, 1928.

avons comparé la maladie expérimentale du singe avec la polyomyélite. En effet, en dehors de la durée de l'incubation de la maladie, les manifestations cliniques des deux affections sont superposables. Zwick, Seifried et Witte (1), dans un mémoire paru cinq mois après notre première communication publiée sur ce sujet, confirment la sensibilité du singe vis-à-vis du virus de la maladie de Borna. Selon ces auteurs, cependant, la réceptivité de cette espèce animale ne serait pas constante, même quand l'infection est faite par voie sous-dure-mérienne (les auteurs avaient inoculé en tout 4 animaux : l'un est mort de maladie de Borna le soixante-sixième jour, deux sont morts de maladies intercurrentes, et le quatrième a survécu).

Nous avons inoculé 8 singes (*Macacus rhesus*) dans le cerveau, avec du virus de Borna provenant soit du cerveau des lapins morts de la maladie expérimentale, soit du cerveau des singes. Deux singes sont morts tardivement (2) [cent huit et cent cinquante-six jours après l'inoculation], six singes sont morts en soixante-huit, soixante-dix, soixante-treize, soixante-treize, soixante et onze et soixante-treize jours. Le tableau I donne les résultats de ces inoculations.

Nous croyons pouvoir affirmer à la suite de ces inoculations que le *Macacus rhesus* est très sensible à l'encéphalo-myélite

(1) ZWICK, SEIFRIED et WITTE. *Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*, etc., **32**, 1927, p. 150 (ce mémoire, reçu à la rédaction le 16 juillet 1927, a paru le 31 décembre de la même année, donc près de cinq mois après la publication de notre premier travail qui relatait la réceptivité du singe pour le virus de « Borna »).

(2) Un de ces singes, M2, ayant montré des paralysies récurrentes, s'est remis le cent trentième jour après l'inoculation, et, inoculé dans le cerveau à ce moment avec du virus polyomyélique, il succomba vingt-six jours plus tard; son cerveau contenait le germe de la maladie de Borna, mais pas celui de la polyomyélite.

L'autre animal, *Macacus rhesus* M22, avait subi préalablement 6 injections cérébrales de virus de « Borna » formolé; inoculé ensuite avec du virus frais de passage, par la même voie, il devint malade le cent unième jour après l'inoculation d'épreuve, et mourut sept jours plus tard, avec présence de virus dans le névraxe.

Trois autres singes de la même espèce, qui avaient reçu auparavant diverses injections, soit de virus de « Borna » atténué, soit du virus polyomyélique (singes M14, M28 et M29), inoculés dans le cerveau avec du virus actif de l'encéphalo-myélite enzootique, ont succombé respectivement en quarante-huit, quatre-vingt-trois et quarante-huit jours, avec lésions histologiques positives et présence de corpuscules de Joest-Degen.

Ceci porte à 11 le nombre total des singes inoculés par nous avec le virus de la maladie de Borna.

enzootique conférée par la voie cérébrale (1). L'incubation de la maladie et son évolution sont différentes suivant les indi-

TABLEAU I. — Inoculation de virus de « Borna » dans le cerveau des singes.

NUMÉRO DU SINGE	MATÉRIEL INOCULÉ	DÉBUT de la maladie	MORT des animaux	CONTRÔLE histologique	PASSAGE du cerveau des singes dans le cerveau des lapins	SUITE des inoculations faites aux lapins	CONTRÔLE histologique du cerveau des lapins
M1	Cerveau de lapin.	57° j.	73° j.	+++	115 A	Mort le 37° j.	+++
					126 A	Mort le 30° j.	+++
M19	Cerveau de lapin.	64° j.	73° j.	+++	21 B	Mort le 28° j.	+++
					22 B	Mort le 33° j.	+++
M23	Cerveau de lapin.	42° j.	71° j.	+++	45 B	Mort le 30° j.	+++
					46 B	Mort le 28° j.	+++
M3	Cerveau de singe.	71° j.	73° j.	+++	252 B	Mort le 31° j.	+++
					258 B	Mort le 26° j.	+++
M20	Cerveau de singe.	60° j.	68° j.	+++	340	Mort le 29° j.	+++
					341	Mort le 30° j.	+++
M24	Cerveau de singe.	67° j.	70° j.	+++	433 B	Mort le 29° j.	+++
					434 B	Mort le 31° j.	+++

vidus, mais la mort survient régulièrement de soixante-huit à soixante-treize jours après l'inoculation, avec une fixité remarquable.

(1) ZWICK, SEIFRIED et WITTE ont montré dans un travail récent (*Arch. f. Wissensch. u. Prakt. Tierheilk.*, 59, 1929, p. 543) que le singe (*Mac. rhesus*) est réceptif à la maladie conférée par voie sous-cutanée.

2. Poule. — La poule serait sensible au virus de la maladie de Bornu. C'est la conclusion que Zwick, Seifried et Witte tirent de leurs expériences (1). Ces auteurs ont inoculé dans le cerveau 4 poules, avec une émulsion virulente ; une poule est morte de maladie intercurrente, deux ont survécu, et la quatrième est morte avec des phénomènes paralytiques le cinquante-deuxième jour après l'inoculation. Était-elle morte de la maladie conférée ? Les auteurs n'ont pas fait des passages de contrôle, avec, comme point de départ, le cerveau de cette poule. L'étude histologique de son cerveau montrait une « encéphalite diffuse avec la participation connue des vaisseaux », et l'absence de corps de Joest-Degen.

Dans ces conditions, il restait à contrôler la réceptivité de la poule pour le germe de la maladie de Bornu. Nous avons fait, dans ce but, les expériences qui suivent :

EXPÉRIENCE I. — Trois poules de race *White Leghorn*, âgées de trois mois (A67, B68 et A46), ont été inoculées dans le cerveau avec une émulsion virulente de cerveau de lapin de passage (virus Bornu). On inocule en même temps et par la même voie le lapin témoin 396 A (poids : 2.120 grammes), qui succombe à la maladie conférée le trente-septième jour (contrôle histo-pathologique positif). Les poules ne présentent rien de particulier pendant trois mois ; on les sacrifie.

Dans cette expérience, les poules infectées par voie cérébrale se sont montrées réfractaires au virus de l'encéphalomyélite enzootique.

EXPÉRIENCE II. — Trois poules de race *Plymouth Rock*, âgées de quatre mois (P109, P114 et P195), sont inoculées par voie sous-dure-mérienne avec le virus de Bornu. L'animal témoin de ces inoculations, le lapin 491 A (poids 2.610 grammes), meurt de la névralgie conférée trente-neuf jours plus tard (contrôle histo-pathologique positif). Les poules se montrent en parfait état de santé pendant cent vingt jours. On les sacrifie à ce moment. Avec des émulsions provenant de leur cerveau et de leur moelle, on inocule des lapins neufs, tou-

(1) ZWICK, SEIFRIED ET WITTE; *Zeits. f. Infekt. d. Haustiere*, 30, 1926, p. 75.

jours par voie cérébrale. *Les 16 lapins ainsi inoculés* (4 pour chaque poule, 2 avec émulsion de cerveau et 2 avec émulsion de moelle) *ne montrent rien de particulier et survivent*. Ajoutons que l'étude histologique du système nerveux central et périphérique (cerveau, moelle, ganglions spinaux, nerf sciatique) des trois poules n'a révélé aucune modification tissulaire.

Dans cette expérience aussi, trois poules se sont donc montrées réfractaires au virus introduit dans le cerveau.

EXPÉRIENCE III. — Six Poules âgées de deux mois seulement (D39, D40, D41, D42, D43, D44) sont inoculées, en même temps que le lapin témoin 26B (poids : 1.900 grammes), sous la dure-mère, avec une émulsion cérébrale de virus de Borna. Ce lapin meurt de la névraxite conférée, le trente-huitième jour (contrôle histo-pathologique positif). Pendant les trois premiers mois qui suivent les inoculations, deux poules sont mortes de pneumonie (D41 et D44; l'étude histologique du système nerveux ne montre aucune modification tissulaire). Les quatre autres poules présentent un aspect normal et survivent.

En résumé ces expériences montrent que *sur 12 poules inoculées dans le cerveau avec le virus de l'encéphalo-myélite enzootique* (Borna), *nous n'avons enregistré aucun cas de réussite de transmission de la maladie expérimentale*. Remarquons que les poules étaient jeunes, donc, en principe, plus sensibles que les adultes. *Le virus introduit dans le cerveau de la poule ne peut pas y survivre, puisque recherché à ce niveau cent vingt jours après son introduction, il n'a pas été retrouvé*.

CONCLUSIONS. — *A l'encontre des conclusions formulées par Zwick et ses collaborateurs, la poule paraît être réfractaire au virus de la maladie de Borna, introduit sous la dure-mère.*

3. Cobaye. — La suite de nos expériences sur la réceptivité du cobaye vis-à-vis du virus introduit dans le cerveau nous montre que l'incubation de la maladie expérimentale chez cette espèce animale peut être de durée très variable. On sait que la maladie se déclare d'habitude après un laps de temps qui varie entre trois semaines et un à deux mois. Mais voici,

à titre d'exemple, un cas où l'animal inoculé devient malade et meurt beaucoup plus tard que d'habitude (trois cent soixante-treize jours après l'inoculation).

EXPÉRIENCE. — Le cobaye 122 A, inoculé le 27 mai 1927 dans le cerveau avec une émulsion virulente de cerveau de singe mort de maladie expérimentale, placé seul dans une cage, ne montre rien de particulier pendant près d'un an, c'est-à-dire jusqu'au 9 mai 1928. A cette date, l'animal présente un début de parésie du train postérieur. La parésie s'accroît par la suite, et devient paralysie nette quatre jours plus tard. On assiste à une paralysie ascendante type Landry, qui évolue en dix-huit jours, pour aboutir à une tétraplégie complète. Le cobaye succombe le 3 juin 1928, c'est-à-dire le vingt-cinquième jour depuis l'apparition des premiers symptômes nerveux, et *trois cent soixante-treize jours depuis l'inoculation*. L'autopsie ne révèle rien de particulier. L'étude histologique met en évidence des altérations caractéristiques de Borna dans le cerveau, dans la moelle à tous les niveaux, dans les ganglions spinaux, ainsi qu'une légère infiltration interstitielle diffuse à éléments mononucléaires dans les nerfs périphériques (septinévrite). Présence de corpuscules de Joest-Degen dans les neurones de l'écorce, de la corne d'Ammon, et des ganglions spinaux. Deux passages faits sur des lapins avec une émulsion de cerveau et moelle de notre cobaye ont donné des résultats positifs.

Il s'agit bien chez le cobaye 122 A d'une incubation excessivement prolongée. Ayant à l'esprit la possibilité de tels cas, dans l'étude expérimentale de la maladie de Borna, on doit toujours attendre pendant longtemps le résultat d'une inoculation faite au cobaye. Ajoutons qu'un cas semblable au nôtre a été relaté aussi par Zwick et ses collaborateurs.

4. Chat. — Nous avons fait des tentatives pour conférer la maladie aux chats. Six chats ont été inoculés par voie sous-durémérienne (1) à l'aide de matériel cérébral frais ou glycérimé, provenant de lapins ou de singes morts à la suite de la maladie

(1) Nous remercions M. Dunkin pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée dans nos expériences.

expérimentale. Les chats ainsi inoculés ont été bien observés, et la température prise tous les jours n'a montré rien de particulier. Aucun symptôme clinique n'a été observé pendant les mois qui ont suivi les inoculations. Nous avons sacrifié ces chats après des intervalles de temps variant entre cent dix-huit et deux cent vingt-cinq jours. L'étude minutieuse du système nerveux a permis de constater l'intégrité histologique parfaite de ce système. Des passages de cerveau ou de moelle, sur des lapins, ont donné des résultats négatifs. Voici d'ailleurs le tableau II qui résume ces expériences :

TABLEAU II. — Expériences faites sur des chats.

MATÉRIEL virulent inoculé	NUMÉRO des chats	POIDS en grammes	SACRIFIÉ APRÈS	NÉVRAXE DU CHAT inoculé aux lapins	NUMÉRO des lapins inoculés dans le cerveau	POIDS DES LAPINS en grammes	SUITE des inoculations aux lapins
Cerveau frais de lapins.	1	2.020	138 j.	Cerveau.	255 B	1.760	Survit.
				Moelle.	254 B	1.680	Survit.
	2	2.200	138 j.	Cerveau.	252 B	1.560	Survit.
				Moelle.	253 B	1.660	Survit.
	3	2.460	Mort accidentellement 56 ^e j.				
Cerveau glycériné de lapins.	6	1.840	140 j.	Cerveau.	257 B	1.560	Survit.
				Moelle.	256 B	1.560	Survit.
Cerveau glycériné de singes.	4	1.640	118 j.	Cerveau.	244 B	1.400	Survit.
				Moelle.	245 B	1.500	Survit.
	5	2.340	225 j.	Cerveau.	250 B	1.700	Survit.
				Moelle.	250 B	1.480	Survit.

Chacune des trois souches utilisées pour l'inoculation des

chats a été inoculée en même temps dans le cerveau de lapins témoins; ces derniers sont morts de névraxite enzootique expérimentale (vérification histologique) dans le délai habituel.

Nous pouvons conclure que *le chat n'est pas réceptif au virus de la maladie de Borna introduit dans le cerveau*. Insistons sur un fait : le virus inoculé dans le cerveau du chat y est détruit, et on ne peut plus le retrouver dans les limites de temps dans lesquelles nous l'avons cherché. Chez le chien, ainsi que nous le montrerons plus bas, le virus peut survivre dans le névraxe, sans déclencher de maladie mortelle, et même sans engendrer le moindre symptôme nerveux. Nous reviendrons plus loin sur l'explication de ce fait.

5. **Chien** (1). — Les expériences de Zwick, Seifried et Witte ont montré que le chien résiste à l'infection de virus de Borna, même quand le germe est introduit par voie cérébrale. Nous avons inoculé nous aussi des chiens. Notre but n'était pas seulement de vérifier la résistance de cette espèce animale pour le virus de l'encéphalo-myélite enzootique, mais aussi de chercher, ainsi que nous l'avons fait pour le chat et la poule, si le virus pouvait survivre dans l'organisme du chien.

EXPÉRIENCE. — Deux chiens sont inoculés sous la dure-mère : *le chien 1* (âgé de quatre mois) avec une émulsion de cerveau frais virulent, le lapin et *le chien 2* (vieux chien) avec une émulsion de cerveau glyceriné virulent, provenant d'un singe mort de la maladie expérimentale.

Des lapins témoins, inoculés avec les deux souches de germes, ont vérifié la virulence des produits inoculés.

Le chien 1 ne montre rien de particulier pendant cent cinquante-cinq jours. A cette date, on le sacrifie; son cerveau et sa moelle servent à préparer des émulsions qui sont inoculées aux lapins par voie cérébrale. Ces inoculations montrent que le virus est absent dans le névraxe de ce chien.

Le chien 2 se montre bien portant pendant le temps qui suit l'inoculation et jusqu'au vingt-deuxième jour, il semble alors

(1) Les inoculations aux chiens ont été faites avec l'aide de M. Dunkin que nous remercions vivement.

légèrement malade; le vingt-quatrième jour, sa température (prise régulièrement deux fois par jour) tombe de 2° C au-dessous de la normale. Mais, l'animal se remet, sa température remonte vite à la normale, et ne subit plus que des petites oscillations, jusqu'au quarante-septième jour; elle descend alors de nouveau de près de 2° au-dessous de la normale. Elle remonte par la suite, et l'animal ne montre plus rien de particulier jusqu'au cent cinquante-huitième jour. A cette date, il est sacrifié. Avec des particules de son névraxe, on fait des émulsions qui servent à inoculer des lapins par voie sous-dure-mérienne :

a) L'émulsion de moelle est inoculée au lapin 301 B (poids : 1.420 grammes), qui ne montre rien de particulier pendant les quatre-vingts jours qui suivent l'inoculation. A cette date, on le sacrifie.

b) L'émulsion cérébrale provenant du *chien 2* est introduite sous la dure-mère du lapin 285 B (poids : 2.020 grammes). L'animal présente de l'incoordination et une légère parésie du train postérieur le onzième jour, mais se remet par la suite. Cinquante-six jours plus tard, on lui inocule dans le cerveau une émulsion de virus frais, en même temps qu'à un témoin (lapin 343 B, poids : 1.540 grammes). Ce dernier lapin meurt de maladie de Borna le trente-deuxième jour (contrôle histologique positif); le lapin 285 B résiste à l'inoculation, se montre immunisé, et survit. Une autre inoculation cérébrale de virus frais, pratiquée quelque temps plus tard, le laisse en parfait état de santé, tandis qu'un témoin (lapin 354 B, poids : 1.880 grammes) succombe de maladie de Borna en trente-six jours.

En résumé, le lapin 285 B, inoculé sous la dure-mère avec une émulsion cérébrale provenant du *chien 2*, fait une ébauche de maladie qui lui confère un état réfractaire solide contre le virus de l'encéphalo-myélite enzootique. Force nous est de conclure que le *chien 2* (inoculé par voie cérébrale avec ce même virus et sacrifié le cent cinquante-huitième jour) avait dans son cerveau le virus de la maladie de Borna, en quantité insuffisante pour déclencher une maladie mortelle chez le lapin, mais en quantité suffisante pour lui conférer un état d'immunité solide.

CONCLUSION. — *Le chien inoculé par voie sous-dure-mérienne avec le virus de l'encéphalo-myélite enzootique se montre réfractaire à la maladie. Le virus peut survivre dans son cerveau pendant longtemps (cent cinquante-huit jours).*

6. Lapin. — A. INFECTION PAR VOIE INTRAMUSCULAIRE — On sait que le lapin est l'animal d'expérience le plus sensible au virus de Borna. Nous avons étudié antérieurement, ainsi que les auteurs allemands, les diverses voies d'introduction du virus dans l'organisme de cette espèce animale. Parmi les diverses manières d'inoculation, nous avons envisagé dans nos expériences la *voie intramusculaire*. Les expériences publiées par Zwick, Seifried et Witte en 1926 (1) arrivaient à la conclusion que le virus introduit dans le muscle du lapin ne confère pas la maladie. Nos tentatives ont abouti à des résultats différents, ainsi que le montrent les protocoles d'expérience qui suivent :

a) Le lapin 157 B (poids : 1.460 grammes) est inoculé dans le muscle du râble avec 1 cent. cube d'une émulsion au 1/10 de cerveau frais virulent. L'animal devient malade (parésies, paralysies) et meurt avec les symptômes caractéristiques le cinquante-quatrième jour. Présence de lésions de « Borna » dans la moelle et dans le cerveau ; corps de Joest-Degen abondants, surtout au niveau de la corne d'Ammon.

b) On inocule 1 cent. cube d'une émulsion cérébrale virulente dans le muscle du râble du lapin 158 B (poids : 1.440 grammes). L'animal présente les symptômes cliniques de la maladie de Borna, et meurt cinquante-quatre jours après l'inoculation. Contrôle histologique du névraxe, positif.

c) Un troisième lapin, 159 B (poids : 1.500 grammes), inoculé de la même manière que les deux animaux précédents, succombe à la maladie le quarante-troisième jour depuis son inoculation. Lésions histo-pathologiques typiques dans son névraxe, y compris la présence des corpuscules intranucléaires de Joest-Degen.

Ces expériences permettent de conclure que *la voie intramusculaire se prête à la transmission de la maladie de Borna aux lapins.*

(1) ZWICK, SEIFRIED et WITT. *Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*, 30, 1926, p. 81.

B. TRANSMISSION DE LA MALADIE PAR VOIE GASTRIQUE. — Zwick et ses collaborateurs ont réussi à infecter des lapins avec le virus de Borna administré *per os*, mélangé aux aliments, ce qui réalise pour eux une infection « par voie intestinale ». Nous avons objecté que ces expériences ne sont pas à l'abri de toute critique, étant donné que le virus aurait pu s'implanter dans la muqueuse buccale, à la faveur d'une érosion locale. Or, on sait, depuis les recherches de Manouélian et Viala, que, dans cette muqueuse, il existe des neurones, tissu semblable à l'infection par les ultravirus neurotropes. Pour faire une expérience à l'abri de cause d'erreur, il fallait donc éviter le contact prolongé du virus avec cette muqueuse, en introduisant l'émulsion virulente dans l'estomac, à l'aide d'une sonde. C'est ce que nous avons fait. Nous avons administré de cette manière une émulsion virulente de cerveau dilué au 1/20, à huit lapins partagés en deux lots, à raison de 15 cent. cubes d'émulsion par animal. Les lapins, de taille différente, pesaient entre 4.400 grammes et 350 grammes. Pour un des deux lots de quatre lapins, cette administration de virus a été suivie d'une autre de 5 cent. cubes, à vingt-quatre heures d'intervalle. Un seul de ces huit animaux est mort de maladie de Borna le trente-deuxième jour, le lapin 378 A, pesant 380 grammes (introduction unique de virus dans l'estomac). Deux passages cérébraux, en partant de son cerveau, ont donné des résultats positifs, qui ont été confirmés par l'examen histologique. Dans cette expérience aussi, la sensibilité spéciale des jeunes lapins ressort avec évidence. Les animaux qui ont survécu se sont montrés sensibles à une inoculation cérébrale ultérieure, d'épreuve.

En résumé, *la transmission de la maladie par voie gastrique est possible, quoique d'une manière exceptionnelle.*

C. INFECTION PAR COHABITATION. — Les expériences de Zwick et ses collaborateurs (1) ainsi que les nôtres (2) ont montré que, dans la maladie de Borna, la contagion de cage ne se réalise pas si on laisse séjourner des lapins normaux un temps

(1) ZWICK, SEIFRIED et WITTE. *Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*, 30, 1926, p. 42; 1927, 32, p. 153.

(2) NICOLAU et GALLOWAY. *Borna disease, etc.*, Monographie. 1928, Stationery Office, Londres.

plus ou moins long dans la même cage que les animaux malades. Nous avons repris cette question et réalisé deux séries d'expériences. Dans la première, nous avons placé, dans deux cages, quatre lapins neufs de taille différente : 389 A, pesant 3.160 grammes et 350 A, pesant 2.640 grammes; 478 A, pesant 2.320 grammes et 481 A, pesant 1.010 grammes. Avec chaque groupe de deux animaux, nous avons gardé en permanence deux ou trois lapins atteints de la maladie de Borna, à un stade avancé, à la suite d'infection par voie cérébrale. A leur mort, les lapins malades étaient remplacés par d'autres lapins malades. Les animaux non inoculés, gardés ainsi en contact permanent avec des animaux malades, n'ont présenté aucun symptôme particulier. Pensant qu'ils auraient pu contracter une infection latente, sans symptômes apparents, et devenir ainsi immunisés, nous les avons inoculés dans le cerveau avec du virus frais : le lapin 389 A, après trente-huit jours de contact avec des animaux malades, les lapins 350 A, 478 A et 481 A, après soixante-dix-huit jours de contact. Tous sont morts de maladie de Borna dans le délai habituel, ainsi que deux témoins inoculés en même temps, avec des symptômes cliniques et des altérations anatomo-pathologiques caractéristiques.

Dans une deuxième série d'expériences, trois lapins neufs, 500 A (2.640 grammes), 487 A (1.540 grammes) et 480 A (1.040 grammes), furent mis en contact avec des lapins malades, de la même manière que dans l'expérience précédente. Pour favoriser la localisation du virus éventuellement contracté par cohabitation, nous avons inoculé sous la dure-mère de ces animaux de l'eau physiologique stérile (le lapin 500 A après trente-neuf jours de contact avec les animaux malades, les deux autres après soixante-dix-huit jours de contact). Le lapin 480 A — le plus jeune de la série (poids : 1.040 grammes), donc le plus sensible à l'action pathogène du virus — a présenté une paralysie du train postérieur et est mort quarante jours après l'introduction de l'eau physiologique dans le cerveau. L'étude histologique de son névraxe, ainsi que le résultat d'un passage cérébral fait en partant de son cerveau, ont montré qu'il s'agissait bien de la maladie de Borna, le virus s'étant localisé au niveau de l'encéphale à l'occasion du traumatisme réalisé par l'injection d'eau physiologique. Ainsi, l'infection par cohabitation est pos-

sible ; elle devient manifeste si la résistance du terrain est expérimentalement diminuée. Dans la nature, et chez les espèces animales plus sensibles, ce fléchissement de la résistance est probablement occasionné par divers facteurs agissant spontanément sur l'organisme.

Les deux autres lapins, 500 A et 487 A, ne présentant rien de particulier, furent réinoculés de nouveau avec de l'eau physiologique dans le cerveau, quarante et un jours après la première injection similaire. Enfin, vingt-cinq jours plus tard, infectés par la même voie avec du virus de passage, ils se sont montrés sensibles et sont morts en même temps que deux témoins infectés dans le cerveau au même moment.

CONCLUSIONS. — *Dans l'encéphalo-myélite enzootique expérimentale des lapins, la contagion de cage est possible à condition que les animaux soumis à la contagion soient jeunes.*

On peut mettre en évidence l'infection latente des animaux contaminés, en produisant chez eux un traumatisme cérébral (inoculation d'eau physiologique stérile sous la dure-mère).

Ces expériences d'infection par cohabitation ont été relatées par nous en février 1929 dans une note présentée à la Société de Biologie (1). Depuis, dans un travail récent, Zwick, Seifried et Witte (2) ont publié des recherches qui confirment (sans les mentionner) les nôtres. Ces savants ont réussi [non pas « *zum erstenmal* » comme c'est indiqué dans leur texte, puisque notre note était publiée deux mois avant que leur travail ait été envoyé à l'imprimerie (3)] à obtenir quelques résultats positifs, en mettant en contact des lapins malades avec des lapins normaux dont quelques-uns avaient reçu des inoculations intracérébrales d'eau physiologique (ainsi que nous l'avions fait), ou avaient subi l'irritation de la muqueuse nasale à l'aide d'ammoniaque. Les mêmes auteurs ont pu également transmettre, par cohabitation, la maladie aux rats.

(1) NICOLAU et GALLOWAY. Encéphalo-myélite enzootique expérimentale. Infection par cohabitation, etc., *C. R. de la Soc. de Biol.*, **100**, 23 février 1929, p. 537.

(2) ZWICK, SEIFRIED et WITTE. *Arch. f. Wissensch. u. Prakt. Tierheilk.*, **59**, 1929; p. 525.

(3) Le travail des auteurs allemands porte sous le titre la mention : « *eingegangen am 1^{er} mai 1929* » ; il a paru quelques mois après cette date.

D. INTRODUCTION DE VIRUS DANS LES GANGLIONS LYMPHATIQUES. — Qu'advient-il du virus introduit dans un ganglion lymphatique ? Peut-il y pulluler, se généraliser dans l'organisme et atteindre le système nerveux pour déterminer la maladie mortelle ? Voilà des questions auxquelles nous avons répondu par les expériences qui suivent :

Technique utilisée : dans toutes nos expériences, nous avons employé des gros lapins qui pesaient plus de 2.000 grammes. Virus inoculé : émulsion homogène diluée au 1/20 de cerveau virulent provenant de lapins morts d'encéphalo-myélite enzootique expérimentale conférée par voie sous-dure-mérienne. Ganglions lymphatiques choisis : ganglion poplité gauche et ganglion inguinal droit ; on incise la peau préalablement épilée et aseptisée, on met à nu le ganglion voulu, et on inocule dans son épaisseur 3-4 gouttes d'émulsion, en ayant soin que le liquide inoculé ne souille pas la plaie. Au moment où l'on retire l'aiguille du ganglion, on cautérise l'endroit de la piqûre avec la pointe d'une pipette en verre chauffée, pour empêcher le liquide introduit dans le ganglion d'en sortir. On ferme la plaie cutanée à l'aide de 2-3 agrafes Michel, qu'on retire après trois ou quatre jours. L'endroit opéré peut servir de porte d'entrée à des infections septiques banales, qui entraînent la mort rapide des animaux ; pour cette raison, nous avons préféré couvrir la plaie d'une couche de collodion.

EXPÉRIENCE 1. — Avec une émulsion cérébrale virulente provenant du lapin 20AB, on inocule dans les ganglions lymphatiques 4 lapins : 2 dans le ganglion poplité gauche (1N et 2N) et 2 dans le ganglion inguinal droit (3N et 4N). La même émulsion sert à inoculer dans le cerveau le lapin 10N, témoin de la virulence des germes utilisés. Ce dernier animal meurt, après 23 jours, de névraxite caractéristique, avec contrôle histologique positif, y compris la présence des corpuscules de Joest-Degen. Le lapin 1N meurt de Bornavirus en trente-trois jours, avec de fortes lésions médullaires, lésions infiltratives cérébrales et absence de corps de Joest. Le nerf sciatique gauche (du côté de l'inoculation), dépourvu de lésions. Un passage cérébral sur le lapin 73N — ayant comme point de départ une émulsion faite avec le cerveau du lapin 1N — donne un résultat positif (mort

le huitième jour, avec lésions névraxiques positives et présence de corps de Joest-Degen). Les 3 autres lapins, inoculés dans les ganglions lymphatiques, survivent.

Disons, dès maintenant, que la mort du lapin 1N — inoculé dans le ganglion poplité — est une exception, due probablement à une erreur de technique. En effet, nous avons inoculé en tout 20 lapins dans les ganglions lymphatiques, avec ce seul cas positif. Tous les autres animaux inoculés de la sorte ont survécu sans montrer des symptômes de maladie de Borna.

Voici encore une expérience faite de la même manière :

EXPÉRIENCE 5. — Une émulsion cérébrale préparée avec le cerveau du lapin 41N (encéphalo-myélite conférée par voie sous-dure-mérienne ; mort le trente et unième jour après l'inoculation), diluée au 1/20, est inoculée à raison de 3-4 gouttes dans les ganglions lymphatiques des lapins : 96N et 97N (ganglion poplité gauche), 99N et 101N (ganglion inguinal droit) ; la même émulsion virulente est inoculée dans le cerveau du lapin témoin 94N. Ce dernier animal meurt de Borna le trentième jour ; les 4 animaux inoculés dans le ganglion lymphatique survivent.

Trois autres expériences (*exp. 2, 3 et 4*) ont donné des résultats semblables.

Le tableau III montre l'ensemble de ces expériences.

En résumé, *l'inoculation de virus encéphalo-myélitique dans un ganglion lymphatique (poplité, inguinal) du lapin ne confère pas la maladie et n'amène pas la mort de l'animal* (une seule exception sur 20 inoculations). Connaissant le fait qu'une quantité très petite de virus (I-II gouttes) introduite dans un nerf (sciatique) du lapin entraîne la mort de l'animal (1), ainsi que le fait que des dilutions de virus — allant jusqu'au 1/10.000

(1) Les expériences de Zwick, Seifried et Witte, publiées en 1926 (*Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*, 30, 1926, p. 82) montraient que la voie « périneurale » (sciatique) ne se prête pas à l'infection du lapin. Nicolau et Galloway ont abouti à des résultats positifs en inoculant le virus dans ce même nerf (*British. J. of Exp. Path.*, 8, 1927, p. 336 ; *Borna Disease*, etc...). His Majesty's Stationery Office, Londres, 1928, p. 30). Depuis, Zwick et ses collaborateurs ont confirmé nos recherches, aboutissant eux aussi à conférer la maladie aux lapins par inoculation de virus dans le nerf sciatique (*Arch. f. Wissensch. u. Prakt. Tierheilk.*, 59, 1929, p. 515), mais sans mentionner nos travaux qui ont précédé leur publication de près de deux années.

TABLEAU III. — Inoculation de virus
dans les ganglions lymphatiques des lapins.

VIRUS UTILISÉ	INOCULÉ DANS	NUMÉRO des lapins inoculés	SUITE des inoculations	CONTRÔLE histologique	PASSAGE de cerveau dans le cerveau des lapins	SORT des passages	RÉSULTAT
Emulsion cerveau. Lapin 20 AB.	Ganglion poplitée gauche.	1 N	Mort le 33 ^e j.	±	73 N	Mort le 48 j., Borna.	Positif.
		2 N	Survit.				Négatif.
	Ganglion inguinal droit.	3 N	Survit.				Négatif.
		4 N	Survit.				Négatif.
	Cerveau (témoin).	10 N	Mort le 23 ^e j.	+++			Positif.
Emulsion cerveau. Lapin 16 AB.	Ganglion poplitée gauche.	20 N	Mort le 40 ^e j., pneumonie.	Négatif.	75 N	Survit.	Négatif.
		43 N	Mort le 6 ^e j. accidentellement.	Négatif.			
	Ganglion inguinal droit.	49 N	Survit.				Négatif.
		46 N	Survit.				Négatif.
	Cerveau (témoin).	47 N	Mort le 21 ^e j.	+++			Positif.
Emulsion cerveau. Lapin 30 AB.	Ganglion poplitée gauche.	22 N	Mort le 21 ^e j., pneumonie.	Négatif.			Négatif.
		23 N	Survit.				Négatif.
	Ganglion inguinal droit.	21 N	Survit.				Négatif.
		25 N	Survit.				Négatif.
	Cerveau (témoin).	24 N	Mort le 29 ^e j.	+++			Positif.
Emulsion cerveau. Lapin 41 N.	Ganglion poplitée gauche.	28 N	Survit.				Négatif.
		29 N	Mort le 38 ^e j. accidentellement.	Négatif.	79 N	Survit.	Négatif.
	Ganglion inguinal droit.	30 N	Survit.				Négatif.
		31 N	Survit.				Négatif.
	Cerveau (témoin).	26 N	Mort le 38 ^e j.	+++			Positif.

VIRUS UTILISÉ	INOCULÉ DANS	NUMÉRO des lapins inoculés	SUITE des inoculations	CONTRÔLE histologique	PASSAGE de cerveau dans le cerveau des lapins	SORT des passages	RÉSULTAT
Emulsion cerveau. Lapin. 41 N.	Ganglion poplité gauche.	96 N	Survit.				Négatif.
		97 N	Survit.				Négatif.
	Ganglion inguinal droit.	99 N	Survit.				Négatif.
		101 N	Survit.				Négatif.
	Cerveau (témoin).	94 N	Mort le 30 ^e j.	+++			Positif.

et même au 1/20.000 — introduites dans le cerveau engendrent la maladie mortelle, on peut conclure, étant donné également l'absence d'un tissu nerveux développé au niveau des ganglions lymphatiques, à l'affinité strictement neurotrope de ce germe.

E. SUR LA SEPTINÉVRITE 'A VIRUS' DE BORNA CHEZ LES ANIMAUX INFECTÉS EXPÉRIMENTALEMENT. — Cette question a été étudiée d'une manière approfondie par nous-mêmes en collaboration avec M^{me} O. DIMANESCO-NICOLAU, dans un travail antérieur (1). Il s'agit de la dissémination du virus de Borna par voie nerveuse centrifuge dans l'organisme animal.

Nous avons été les premiers à démontrer la présence du virus dans les nerfs périphériques des animaux infectés par voie cérébrale ou autre avec le virus de la névraxite enzootique. Le point de départ de nos recherches dans ce domaine a été l'expérience suivante (2) : des lapins inoculés dans le nerf sciatique droit avec une émulsion virulente meurent avec des symptômes caractéristiques de « Borna » (3), et présentent, en plus des lésions névraxiques, des altérations de névrite interstitielle, dans les deux nerfs sciatiques, dans le tronc inoculé,

(1) NICOLAU, O. DIMANESCO-NICOLAU et GALLOWAY, *Ces Annales*, 43, 1929, p. 1.

(2) NICOLAU, O. DIMANESCO-NICOLAU et GALLOWAY, *loc. cit.*, p. 4.

(3) A l'époque où nous avons publié les résultats de ces expériences — inoculation dans le nerf sciatique avec issue mortelle pour l'animal — les expériences analogues de Zwick et ses collaborateurs concluaient à la non-possibilité d'infecter les animaux par cette voie.

ainsi que dans le tronc du côté opposé; d'un côté, lésions produites par le virus dans sa marche centripète; de l'autre, par les germes dans leur dispersion nerveuse centrifuge. Des animaux inoculés dans le cerveau présentaient également des altérations dans les nerfs périphériques. *Nos expériences, publiées déjà depuis deux années, ont montré la présence du virus dans ces nerfs périphériques* (brachial et sciatique). (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 14 janvier 1928, t. 98, p. 112.)

Les altérations des nerfs périphériques dans la maladie de Borna (chez le cheval) ont été plus ou moins étudiées par Oppenheim (sciatique et axillaire), par Joest (olfactif), par Zwick et Seifreid (optique) et par Bemmman (optique, facial, hypoglosse, trijumeau). Ce dernier auteur avait même émis l'idée, dans sa thèse (1926), que le virus était arrivé au niveau des troncs nerveux lésés, par voie nerveuse descendante, centrifuge. Mais ce n'était là qu'une hypothèse sans contrôle expérimental, qui pouvait cependant être risquée sans danger. Aussi, s'il est juste de faire remarquer que Bemmman a pressenti le mécanisme pathogénique de cette névrite descendante, il faut reconnaître que son hypothèse a été sortie par nous du domaine hypothétique, puisqu'à la suite de nos constatations expérimentales elle est devenue une conclusion d'expérience. D'ailleurs, ces expériences ont été répétées par nous-mêmes avec d'autres ultravirus neurotropes de la même famille que le virus de Borna (herpès, virus rabique fixe, virus rabique des rues, virus poliomyélitique, etc.) avant que Zwick ne vienne refaire nos expériences sur le virus de l'encéphalo-myélite enzootique; ajoutons que Zwick et ses élèves arrivent aux mêmes conclusions que nous, mais oublient simplement d'accorder la priorité à nos travaux.

II. — Etude des cas de « neuro-infections autostérilisées » chez des animaux infectés expérimentalement avec le virus de l'encéphalo-myélite enzootique.

Nous insisterons dans ce chapitre sur un phénomène particulier : *on peut trouver des corpuscules de Joest-Degen* (inclusions nucléaires caractérisant la maladie de Borna) *dans du tissu nerveux dépourvu de toute virulence.*

Dans des travaux antérieurs, nous avons tiré des conclusions de ce fait, quant à l'interprétation de l'inclusion pathognomonique dans cette maladie. Nous ne reviendrons plus sur ce dernier sujet.

1. Infections nerveuses stérilisées *in situ* chez les lapins.

— Certains lapins auxquels on a conféré, dans des essais d'immunisation, un état de résistance partielle vis-à-vis du virus, et qui ont été éprouvés par inoculation cérébrale de virus frais, présentent des symptômes nerveux manifestes de « Borna ». Qu'ils en meurent, ou qu'ils survivent et soient sacrifiés plus tard, l'étude histopathologique confirme le diagnostic de « Borna » : présence de l'ensemble des altérations caractéristiques du névraxe et de corpuscules de Joest-Degen dans le noyau de certains neurones. Mais, malgré la symptomatologie typique constatée pendant la vie, et surtout malgré la preuve indiscutable fournie par les repères histologiques, le névraxe de certains de ces animaux peut être dépourvu de virus.

En voici deux exemples :

a) Le lapin 62 C reçoit en trente-sept jours 5 inoculations intramusculaires de 5 cent. cubes chacune, de virus formolé à 0,2 p. 100. Onze jours après la dernière injection immunisante, l'animal, qui pèse 2.617 grammes, est inoculé dans le cerveau, en même temps qu'un témoin (lapin 86 D, poids : 2.200 grammes), avec du virus frais de passage. Le témoin présente les premiers symptômes de la maladie le vingt-cinquième jour, et en meurt sept jours plus tard, c'est-à-dire trente-deux jours après l'infection. Contrôle histologique positif; présence des corpuscules de Joest-Degen. Le lapin 62 C commence à montrer les premiers signes d'incoordination et de parésie, le vingt-sixième jour; treize jours plus tard il est paralysé, et il reste paralysé d'une manière complète pendant vingt et un jours; il succombe à ce moment, soixante jours après l'introduction de virus dans son cerveau. L'étude histologique de son système nerveux met en évidence des altérations caractéristiques d'encéphalo-myélite enzootique, intenses, au niveau du cerveau, de la moelle, des ganglions spinaux; présence de beaux corps de Joest-Degen, nombreux et volumi-

neux, dans les neurones de la corne d'Ammon, de l'écorce, et dans les cellules nerveuses des ganglions spinaux; les inclusions sont présentes également dans les cellules nerveuses ganglionnaires qui siègent au niveau de la paroi de l'intestin grêle et de l'appendice. Une émulsion faite en partant du cerveau de ce lapin, inoculée dans le cerveau du lapin 23 A, ne confère pas la maladie à cet animal qui survit sans montrer rien de particulier.

Nous sommes obligés de conclure que *la substance nerveuse cérébrale peut contenir des corpuscules de Joest-Degen, tout en étant dépourvue de virulence.*

b) Le lapin 407 A (poids : 2.300 grammes), ayant reçu dans un intervalle de soixante-dix jours 12 injections intramusculaires de virus formolé à 0,2 p. 100, est inoculé dans le cerveau avec du virus frais, treize jours après la dernière injection de virus-vaccin, en même temps que le témoin 380 A. Ce dernier meurt de névrixite contrôlée histologiquement, quarante-cinq jours après l'inoculation. Le lapin 407 A montre, soixante-trois jours après l'inoculation cérébrale, des contractures spastiques généralisées; son poids augmente de 500 grammes, et, cent vingt-sept jours après l'inoculation cérébrale de virus actif, l'animal, présentant les mêmes contractures, est tué par saignée totale. On fait quatre passages sur des lapins : deux avec une émulsion de son cerveau (6 B, poids : 1.600 grammes; 7 B, poids : 2.120 grammes) et deux avec une émulsion de moelle lombaire (8 B, poids : 1.540 grammes; 9 B, poids : 2.400 grammes). Les quatre lapins survivent sans montrer le moindre symptôme de « Borna ». Dans le cerveau du lapin 407 A nous avons trouvé des lésions discrètes et la présence incontestable de corps de Joest-Degen. Remarquons que, en plus des exemplaires tout à fait typiques, intranucléaires, très oxyphiles, entourés de halo, nous avons observé des corps de Joest beaucoup moins rouges que d'habitude, quelques-uns même colorés par le Mann en bleu pâle, véritables formes de régression; de résorption (1).

Le fait essentiel qui se dégage de cette expérience est éga-

(1) Un cas presque identique se trouve à la page 504 dans le tableau n° VII; il s'agit du lapin 388 B.

lement la présence de corpuscules de Joest-Degen dans du matériel avirulent.

Il n'est pas indispensable de conférer un certain état d'immunité aux animaux pour obtenir des cas semblables à ceux relatés plus haut; il suffit parfois d'inoculer du virus atténué. En voici un exemple :

Un lapin normal, 8 C, est inoculé dans le cerveau avec du virus gardé dans du lait à la température du laboratoire pendant quatorze jours. L'animal tombe malade, présente des parésies, ensuite des paralysies, et succombe le vingt-cinquième jour. Lésions intenses dans son névraxe; beaux corps de Joest-Degen, nombreux au niveau de la corne d'Ammon. Une émulsion faite en partant de son cerveau est inoculée sous la dure-mère du lapin 99 C, qui survit et ne présente rien de particulier.

Il s'agit ici aussi de la présence d'inclusions intranucléaires, caractéristiques, dans du tissu nerveux avirulent. Dans ce cas, on constate que le virus inoculé n'était pas du virus conservé dans des conditions *optima*. En effet, il est probable que le séjour des germes dans du lait, à la température du laboratoire, a pu diminuer leur virulence. Pourtant, du virus gardé dans des mêmes conditions peut se montrer virulent même après un séjour de cent jours. Nous sommes obligés de conclure, qu'une résistance particulière et spontanée de l'animal inoculé (lapin 8 C), jointe à une virulence faible des germes utilisés, ont contribué à arriver au résultat signalé, au phénomène de « neuro-infection mortelle autostérilisée ». Ce dernier cas complète les observations relatées plus haut de neuro-infections autostérilisées, observations dont l'une (a) peut être résumée par le terme « neuro-infection mortelle autostérilisée », l'autre (b) par le terme « neuro-infection autostérilisée, avec survie et séquelles névraxiques ».

Rappelons que le virus frais de passage d'encéphalo-myélite enzootique, introduit sous la dure-mère des lapins, amène toujours la mort des animaux; sur un total de plus de 400 lapins inoculés par cette voie au cours de ces trois dernières années, nous n'avons jamais obtenu la survie d'un lapin infecté dans ces circonstances.

Les séquelles névraxiques déterminées par l'introduction du virus atténué dans l'organisme peuvent se traduire par des

symptômes nerveux cliniquement appréciables, ou peuvent exister sans aucun symptôme apparent. Il est certain qu'elles répondent à un état de résistance particulière du tissu nerveux immunisé, acquise par la lutte qu'il a dû soutenir contre le virus inoculé. Les conséquences de cette lutte entre le tissu sensible et le virus sont : la disparition des germes (« autostérilisation »), les modifications histologiques (avec ou sans présence d'inclusions oxyphiles intranucléaires) et l'immunité strictement spécifique vis-à-vis du virus ainsi détruit *in situ*.

La « neuro-infection autostérilisée » amène le plus souvent l'immunité, exceptionnellement la mort; si l'intensité des lésions déterminées par le conflit entre le virus et le névraxe ne provoque pas des troubles trop profonds, l'animal survit et se montre immun (*observation b*); par contre, si l'emplacement et la gravité de ces lésions compromettent les fonctions physiologiques essentielles de l'animal, celui-ci meurt, et l'on constate l'absence de virus dans son névraxe (*observation a*) (1).

Voici encore des exemples qui illustrent les conclusions formulées plus haut :

c) Le lapin 31 B (poids : 1.780 grammes) est inoculé dans les muscles du râble avec une émulsion de virus glycériné, phéniqué. L'animal montre, par la suite, des parésies récurrentes des membres; soixante-dix-sept jours après cette inoculation immunisante, on lui introduit dans le cerveau une émulsion virulente de virus frais de passage. Il ne montre aucun symptôme surajouté et après quelque temps se remet de ses parésies transitoires. L'injection de virus vaccin lui a donc conféré l'immunité. Sacrifié environ quatre mois plus tard, l'étude histo pathologique de son cerveau a fourni des constatations intéressantes : méningite chronique discrète, sauf au niveau de la base du cerveau et du lobe piriforme, où l'on trouve de véritables plaques de méningite; infiltration parenchymateuse diffuse à mononucléaires (cellules plasmatiques, lymphocytes, macrophages, cellules gliales proliférées et mobilisées). Par endroits, ébauches de processus de périvascularite.

(1) Ces constatations, énoncées par Nicolau, Guiraud et Kopciowska à propos de la neuro-infection herpétique autostérilisée, sont valables ainsi dans le domaine de l'infection expérimentale à virus encéphalo-myélitique (Borna).

Au niveau de la corne d'Ammon, certaines cellules ganglionnaires renferment dans leur noyau des restes de corps de Joest-Degen, des débris plus ou moins ronds entourés d'un halo mal défini, et à affinité tinctoriale allant du rose pâle jusqu'au bleu (coloration de Mann). Toujours à ce niveau, de rares

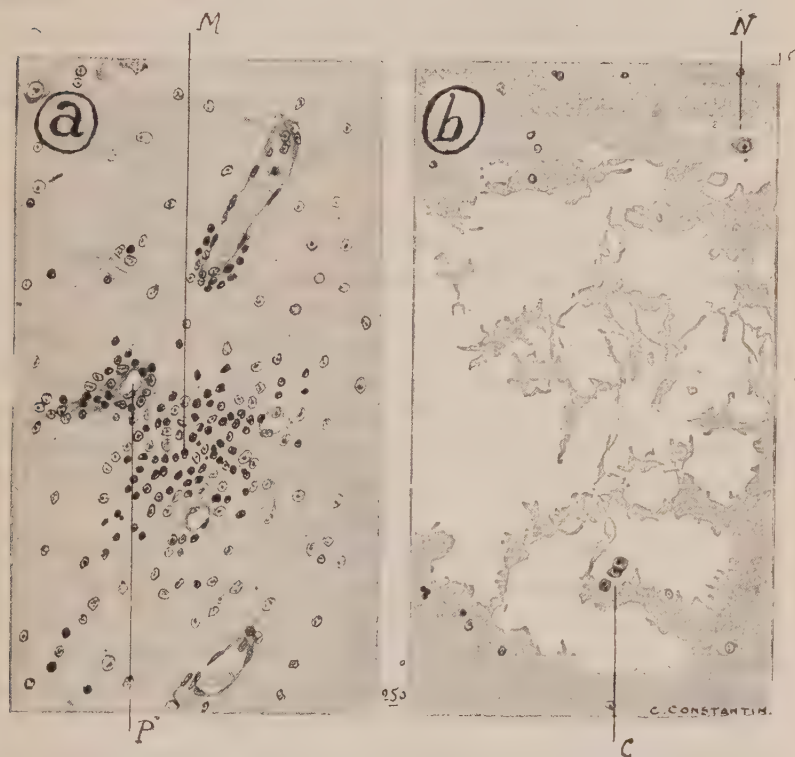


FIG. 1. — a) Cerveau du lapin 45B, rendu réfractaire contre le virus de Borna, et ayant résisté à une inoculation cérébrale de virus frais; sacrifié trois mois plus tard, en état de bonne santé apparente. M, nodule d'infiltration à mononucléaires au niveau du *centrum ovale*; P, processus de périvascularite.

b) Lapin 40B, immunisé contre le virus de Borna et ayant présenté des phénomènes nerveux intenses; sacrifié longtemps après sa guérison. Désagrégation et liquéfaction de la substance cérébrale dans une zone qui part de l'aqueduc de Sylvius et s'étend vers la région sous-thalamique. N, neurone dégénéré; C, corps granulo-adipeux dérivés de la mésoglie.

neurones montrent dans leur noyau de vraies vacuoles, qui représentent probablement l'emplacement des corps de Joest résorbés.

Tout porte à croire que le tissu nerveux, devenu réfractaire vis-à-vis du virus, a réussi à se débarrasser des germes à l'aide des éléments cellulaires sanguins de la série blanche, des cellules gliales, ainsi que par des moyens qui lui appartiennent en propre. Les germes pénétrés à l'intérieur des neurones dans leur noyau, quoique rendus inoffensifs par l'enkystement réalisé par la formation des inclusions (1), subissent encore des transformations ; les inclusions perdent leur affinité oxyphile si caractéristique, et montrent des phénomènes de dégénérescence qui finissent par la résorption et la disparition des corpuscules intranucléaires.

d) Le lapin 38 B (poids : 1.300 grammes) est inoculé également dans les muscles lombaires avec une émulsion de virus glyciné, phéniqué. Il ne montre rien de particulier pendant soixante-quatorze jours ; à ce moment, il reçoit par voie sous-dure-mérienne une émulsion virulente de virus frais de passage. L'animal se montre résistant et survit sans présenter de symptômes morbides ; il est sacrifié quatre mois plus tard. L'étude histo-pathologique de son cerveau nous montre des modifications identiques à celles décrites chez l'animal précédent.

e) On introduit dans les muscles du râble du lapin 45 B (poids : 960 grammes) 1 cent. cube d'une émulsion de virus atténué par l'action de la glycérine phéniquée. L'animal ne montre aucun symptôme morbide, et soixante-dix jours plus tard reçoit dans le cerveau une émulsion de virus frais de passage. Il ne présente encore rien de particulier par la suite. On le sacrifie plus de trois mois plus tard, et on étudie au microscope son système nerveux.

Cerveau : légère méningite chronique, plus accentuée au niveau de certains vaisseaux qui sont touchés d'un vrai processus de périvascularite. Manchons périvasculaires en voie de résorption au niveau de l'écorce. Petits nodules à mononucléaires dans le parenchyme, qui présente une infiltration diffuse à cellules mononucléaires (fig. 1, *a*).

Moelle (à différents niveaux) : modifications minimales consti-

(1) NICOLAU, GALLOWAY et DIMANESCO-NICOLAU, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99, 1928, p. 674.

tuées par une légère infiltration à petites cellules rondes, au niveau des cornes antérieures.

Ganglions spinaux : ces formations sont touchées par l'action immunisante du virus. On constate une forte infiltration interstitielle à mononucléaires; la présence de neurones



FIG. 2. — Cellules nerveuses des ganglions spinaux (région dorsale) provenant de Lapins immunisés contre le virus de Borna et ayant résisté à une ou plusieurs inoculations cérébrales de virus frais de passage (Lapins 45B et 285B, sacrifiés en état de parfaite santé). J, corpuscules de Joest-Degen entourés de halo.

envahis par des cellules capsulaires proliférées; la dégénérescence de certaines cellules ganglionnaires; rares corps de Joest-Degen dans le noyau des cellules nerveuses, inclusions en état de dégénérescence et de résorption (fig. 2).

Nerfs périphériques : le brachial ne présente rien d'anormal. Au niveau du sciatique, on trouve un petit manchon périvas-

culaire à l'intérieur du tronc nerveux, assez près de son émergence ; névrite interstitielle en voie de résorption. Les modifications constatées au niveau de ce nerf montrent que le virus a occasionné également une septinévrite sans symptômes apparents. Le processus infectieux s'est arrêté de lui-même, et le tissu du nerf est devenu stérile comme le devient le tissu du névraxe.

On pourrait objecter que les altérations trouvées dans le système nerveux de ces trois derniers lapins ne sont pas produites par le virus-vaccinant, mais par le virus frais introduit dans le cerveau à l'occasion de l'inoculation d'épreuve. Sans contester la possibilité qu'une partie de ces lésions soient engendrées par ce dernier virus, nous avons la preuve que le virus atténué introduit dans l'organisme que l'on veut immuniser peut provoquer à lui seul des modifications histologiques évidentes dans le système nerveux. Voici des exemples :

f) Le lapin 36 B (poids : 1.800 grammes) est inoculé dans les muscles lombaires avec une émulsion de virus atténué par la glycérine phéniquée. Il devient malade, et montre des parésies qui disparaissent par la suite. Sacrifié près de six mois après l'injection, son système nerveux a révélé des modifications histologiques suivantes : *cerveau*, méningite à mononucléaires, très intense par endroits, surtout au niveau du lobe piriforme ; restes de corpuscules de Joest dégénérés, dans le noyau de certains neurones de la corne d'Ammon. *Nerfs périphériques* : dans un *brachial*, un petit processus de périvascularite, et légère névrite interstitielle, séquelles d'un processus de septinévrite guérie. Dans le *sciatique*, névrite interstitielle à mononucléaires, en voie de résorption.

Il s'agit ici aussi d'une infection nerveuse « autostérilisée ».

g) Le lapin 41 B (poids : 1.640 grammes), inoculé de la même manière que l'animal précédent, présente par la suite des accès de paralysie récurrente, mais survit. On le sacrifie cent soixante-cinq jours après l'inoculation. L'étude histologique de son système nerveux met en évidence des altérations comparables à celles décrites chez le lapin 36 B.

h) Enfin, voici un cas bien plus intéressant, où le comportement de l'animal a été fortement altéré. Il s'agit d'un lapin calme et tranquille comme tous les animaux de son espèce, pesant 1.500 grammes au moment de l'injection musculaire de

virus atténué par la glycérine phéniquée (lapin 40 B). A la suite de l'inoculation, il s'est développé une parésie qui dura pendant quatre-vingt-quatre jours. A ce moment, la parésie disparut, l'animal devint très excité. On ne pouvait plus



FIG. 3. — Mouton 1, inoculé sous la dure-mère avec du virus de Borna; malade le cinquante-cinquième jour, guéri par la suite, sacrifié le cent dix-huitième jour; absence de virus dans le névraxe.

a) Noyaux centraux; manchons périvasculaires.

b) Ecorce frontale; agglomération de cellules mononucléaires autour des neurones.

l'approcher, il était agressif comme un chien affecté de rage furieuse. Pendant ce temps, un garçon d'écurie fut mordu par lui. L'état d'excitation furieuse dura pendant quatorze jours, après quoi tout rendra dans l'ordre. Nous avons sacrifié ce

lapin trois mois plus tard. L'étude histologique de son cerveau nous a montré ce qui suit :

Ébauches de méningite à mononucléaires; restes de processus de périvascularite. Dans les septums, pigment sanguin abondant. Infiltration interstitielle diffuse à mononucléaires (probablement à cellules gliales proliférées et mobilisées), presque dans tout le diencephale. Dans cette dernière région du cerveau, au niveau de la zone thalamique d'un côté, de la zone sous-thalamique de l'autre, foyers de porencéphalie avec destruction de la substance nerveuse et présence, dans la cavité, des cellules d'aspect éphithélioïde, corps granulo-graisseux dérivés de la microglie (1). Ces dernières lésions (fig. 1, *b*), cicatrices de lésions inflammatoires intenses, sont comparables à celles que l'un de nous, en collaboration avec Guiraud et Kopciowska, a trouvé dans le cerveau de certains individus humains aliénés (hébéphrénie, chorée, encéphalites chroniques de nature indéterminée), ainsi qu'aux altérations décrites par Levaditi, Lépine et Schoen et par Nicolau, Guiraud et Kopciowska chez certains lapins affectés de neuro-infections herpétiques autostérilisées, mortelles ou non mortelles. Au niveau du mésocéphale, notre lapin 40B avait un processus de satellitose intense. Les cellules satellites faisant des encoches dans le cytoplasme des neurones; présence de vestiges de neuronophagie. Dans la corne d'Ammon, rares vacuoles dans le noyau des neurones; corps de Joest-Degen dégénérés dans des cellules nerveuses de l'écorce.

En résumé, chez les lapins immunisés contre le virus encéphalo-myélitique (36B, 40B et 41B), et dont l'immunité est contrôlée par l'inoculation cérébrale (407A, 31B, 38B, 45B) ainsi que chez les lapins morts de neuro-infection autostérilisée (62C, 8C), on peut trouver dans le système nerveux (dépourvu de virus), en plus des réactions histologiques chro-

(1) Deux autres lapins immunisés et ayant résisté à une ou plusieurs inoculations cérébrales d'épreuve, sacrifiés alors qu'ils se trouvaient en état de parfaite santé apparente, avaient dans leur cerveau des lésions semblables, particulièrement intenses (lapins 54B et 285B). L'emplacement des trous (fonte du tissu nerveux) tapissés de corps granulo-graisseux se trouvait dans les deux cas dans le diencephale. Chez le lapin 54B, un tel trou communiquait avec l'aqueduc de Silvius. Le même animal avait des altérations semblables dans la moelle, au niveau des cornes postérieures.

niques (1), la présence de corps de Joest-Degen d'aspect normal, ou plus ou moins dégénérés.

Nous avons constaté la présence de ces inclusions dans le cerveau d'un cheval et de deux moutons inoculés par voie

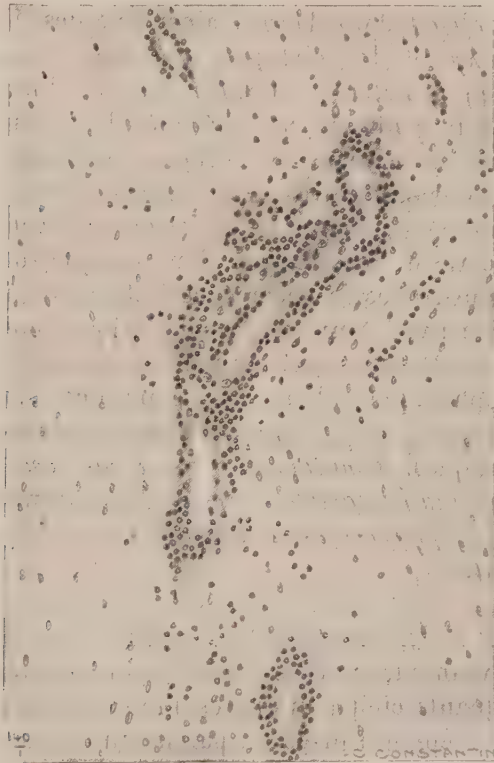


FIG. 4. — Nerf sciatique du Singe 1 (*Macacus rhesus*), inoculé dans le cerveau avec du virus de Borna, mort le soixante-treizième jour. Présence du virus dans le cerveau et dans la moelle, absence du virus dans le nerf sciatique qui montre des lésions intenses de périvascularite et de névrite interstitielle (septinévrite avec « autostérilisation » locale).

cérébrale avec du virus, animaux qui ont survécu à cette inoculation (2).

(1) ZWICK et ses collaborateurs (*loc. cit.*, 1929) trouvent chez un lapin immunisé contre la maladie de Borna, dix-sept mois après la dernière inoculation cérébrale d'épreuve, une « infiltration vasculaire d'intensité moyenne » au niveau de la corne d'Ammon.

(2) NICOLAU et GALLOWAY. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99, 1928, p. 1455.

2. Cheval. — Le cheval N, âgé, est inoculé sous la dure-mère avec 1 cent. cube d'une émulsion épaisse très virulente (l'inoculation à deux lapins témoins a donné des résultats positifs); trente jours après l'inoculation, le cheval a une démarche un peu raide, phénomène qui s'atténue par la suite. On le tue cent cinquante jours après l'inoculation. Une émulsion de son cerveau, inoculée à deux lapins, ainsi que des émulsions de moelle lombaire et de sciatique, inoculées chacune à deux lapins, donnent des résultats négatifs. L'étude histologique du système nerveux central et périphérique de ce cheval met en évidence dans le cerveau des lésions d'infiltrations (légère méningite à mononucléaires; par endroit, des processus de périvascularite nette), mais pas de lésions de dégénérescence. Présence de corps de Joest-Degen, dont quelques-uns typiques, dans certains neurones de l'écorce occipitale, des noyaux centraux et de la corne d'Ammon. Pas de lésions dans la moelle; infiltration interstitielle, présence de rares nodules résiduels post-neuronophagiques dans les ganglions spinaux, mais absence de corps de Joest. Légère infiltration interstitielle dans les deux sciatiques. *Remarquons dans ce cas aussi le processus de régression de la plupart des corps de Joest (affinité tinctoriale atypique) et la présence d'inclusions caractéristiques dans le tissu avirulent.*

3. Mouton. — Le mouton n° 1, inoculé sous la dure-mère avec du cerveau virulent de lapin (lapins témoins positifs), montre, cinquante-cinq jours après l'inoculation, une parésie du train postérieur qui disparaît par la suite. Sacrifié au bout de cent dix-huit jours, on fait les passages suivants: liquide céphalo-rachidien, substance cérébrale (bulbe olfactif, écorce, protubérance), moelle dorso-lombaire, sciatique, sont inoculés chacun à deux lapins avec résultats négatifs. L'étude histologique du névraxe de ce mouton met en évidence des lésions de faible intensité, mais incontestable (fig. 3), ainsi que la *présence de corps de Joest-Degen, dont la plupart dégénérés, en voie de régression.*

Le mouton n° 3, inoculé dans le cerveau avec une émulsion de cerveau de singe mort de maladie de Borna conférée par voie cérébrale (lapins témoins positifs), est sacrifié cent

cinquante-six jours après l'inoculation, n'ayant montré pendant ce temps aucun symptôme. Un passage de son cerveau sous la dure-mère d'un lapin fournit un résultat négatif. L'étude histologique du névraxe de ce mouton a donné des résultats comparables à ceux du cas précédent.

4. Singe. — Chez le singe nous avons observé des « autostérilisations » locales (fig. 4).

CONCLUSIONS. — *Il résulte de toutes ces expériences, que certains lapins peuvent survivre à l'infection névrazique occasionnée par le virus de « Borna » atténué convenablement. Ces animaux se montrent par la suite résistants contre le germe actif introduit dans le cerveau. Dans leur système nerveux on trouve des altérations qui sont l'expression morphologique du conflit — terminé — entre le virus et le tissu nerveux sensible, la marque tissulaire de l'immunité acquise (lésion d'immunité). Il s'agit donc dans ces cas d'une neuro-infection autostérilisée ayant laissé des séquelles. Parmi ces séquelles figurent aussi les corpuscules de Joest-Degen, qui sont souvent en voie de résorption, et montrent une affinité tinctoriale modifiée.*

Selon l'intensité des séquelles, les animaux survivent, ou meurent après un temps plus ou moins long. Dans ce dernier cas, on se trouve devant des « neuro-infections mortelles autostérilisées » (1). Les modifications histologiques chez ces derniers animaux sont encore plus accentuées que chez les premiers; la présence d'inclusions intranucléaires est encore plus fréquente.

Dans tous ces cas, le virus est absent du névraxe.

Le cheval ainsi que le mouton peuvent réaliser également des « neuro-infections autostérilisées ».

Les corps de Joest-Degen peuvent exister dans du tissu nerveux dépourvu de toute virulence (2).

(1) Levaditi a créé l'expression suggestive de « neuro-infections mortelles autostérilisables » pour désigner les animaux morts à la suite d'inoculation d'herpès ou autre virus neurotrope, avec absence de virus dans leur cerveau.

(2) Nous avons affirmé ce fait dans une communication faite à la Société de Biologie, 28 juillet 1928 (NICOLAU, GALLOWAY et O. DIMANESCO NICOLAU, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 99, 1928, p. 674). Il vient d'être confirmé dans le domaine de la rage par Remlinger. En effet, ce savant a réussi à trouver des corps de Negri dans la substance cérébrale dépourvue de virus.

*
* *

Peut-on affirmer d'une manière certaine que le virus n'existe plus du tout dans le névraxe des animaux ayant subi des infections « autostérilisées » mortelles ou non mortelles? Nous ne le croyons pas. En effet, le seul critérium des expérimentateurs pour juger de la virulence d'un cerveau est l'inoculation du matériel cérébral à étudier sous la dure-mère des animaux neufs. Mais qu'est-ce qu'on inocule dans ces conditions? Des anticorps tissulaires cérébraux (les animaux ayant fourni le système nerveux à étudier présentent des « lésions d'immunité » qui mettent en évidence l'effort du tissu pour se débarrasser des germes), et peut-être du virus neutralisé — quant à son pouvoir pathogène — ou dissimulé par la présence de ces anticorps. Le complexe anticorps plus virus, introduit dans le cerveau des animaux neufs, reste sans action. On conclut, à tort, à l'absence du virus dans le matériel inoculé. Mais, si l'on fait ce que Perdrau a réussi à faire dans ses expériences sur l'herpès, on dissocie ce complexe, et le virus récupère ses propriétés pathogènes. Ce savant a remarqué, depuis longtemps, que le cerveau des lapins infectés avec de l'herpès et morts tardivement avec lésions intenses, mais sans virus dans le névraxe (inoculation immédiate), gardé quelque temps dans de la glycérine, redevient virulent (1). Tout porte à croire que la glycérine a supprimé l'action des anticorps, tout en respectant la virulence des germes tenus en échec par leur présence. Cette interprétation devient encore plus plausible si l'on considère les résultats des expériences récentes publiées par Olitsky et ses collaborateurs (2). Cet auteur a pu mettre en évidence, par la cataphorèse, la présence du virus vaccinal et du virus polyomyélique chez des lapins et des singes immunisés contre ces virus.

Mais, peut-on affirmer, après ces preuves, que pendant la période d'immunité acquise le virus puisse survivre dans l'organisme? Nous ne le pensons pas, quoique l'un de nous,

(1) PERDRAU. *British. J. of Exp. Path.*, 6, 1925, p. 123.

(2) OLITSKY et LONG. *J. of Exp. Med.*, 50, 1929, p. 263. OLITSKY, RHOADS et LONG. *Ibid.*, 50, 1929, p. 273.

avec Levaditi, ait démontré la présence du virus vaccinal dans l'organisme d'animaux devenus réfractaires contre ce germe (1). Nous envisageons le problème de la manière suivante :

Le tissu sensible, envahi par le virus en vertu de ses affinités électives, se défend ; le résultat de la lutte entre ces deux éléments est, d'un côté, les altérations histologiques qui naissent sur place, d'un autre, la résistance acquise par le tissu et la disparition plus ou moins totale des germes. La pullulation du virus enrayée par le mécanisme de défense locale, la plupart des germes détruits par cette lutte, il reste probablement encore des unités virulentes dans certaines cellules qui n'ont réussi à acquérir qu'un état réfractaire partiel. Dans le terrain devenu peu propice à sa culture, le virus pourrait peut-être végéter encore quelque temps, en symbiose avec des rares cellules incomplètement immunisées, mais tenu en échec et dissimulé par les anticorps présents dans le tissu autour de lui. Ce doit être à ce moment que le virus peut être mis en évidence soit par la cataphorèse, soit par la technique utilisée par Perdrau. Quelle est la durée de cette période ? Nous n'en savons rien, mais nous pensons qu'elle est transitoire : si la virulence des germes s'accroît, on doit assister à une récurrence de la maladie (dans l'encéphalo-myélite enzootique expérimentale on connaît l'existence de ces récurrences dans les formes récurrentes) ; si l'état réfractaire du tissu augmente, les germes doivent disparaître après un temps plus ou moins long.

Quoi qu'il en soit, nous voulons montrer seulement que « l'autostérilisation » *in situ* d'un germe à affinités neurotropes peut être seulement apparente, et que le test de la présence du germe, représenté par l'inoculation de matériel à étudier aux animaux neufs, peut fournir des résultats conduisant à des conclusions erronées.

III. — Anatomie pathologique.

LES ALTÉRATIONS DE LA MICROGLIE DANS LA MALADIE DE BORNA (2).
— Les altérations de la mésoglie (microglie) dans des maladies

(1) LEVADITI et NICOLAU. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 177, 1923, p. 466.

(2) En collaboration avec S. Bratianu et Lombard.

à ultravirus neurotropes ont fait le sujet d'étude de divers auteurs pendant ces dernières années. Dans la maladie des jeunes chiens, ainsi que dans la rage, Del Rio Hortega (1919) a décrit la participation et les modifications de cet élément de défense. Les travaux du maître espagnol furent confirmés dans la rage par Collado (1919), par Bazgan et Enachesco (1928). Ensuite, les travaux de Gallego (1926) dans la maladie des chiens; de Vernon (1925), de Kreutzfeld (1925), de Marinesco (1928) dans la poliomyélite humaine; de Ionesco-Mihaesti et Tupa (1929) dans la poliomyélite expérimentale du singe; de Alberca dans l'encéphalite herpétique expérimentale du lapin; ont précisé le rôle de la microglie dans les états pathologiques mentionnés, et les modifications qu'elle subit pendant la lutte du tissu nerveux contre les virus neurotropes.

Dans l'encéphalite léthargique, Marinesco et Draganesco, Da Fano, Achard, Gruber, Szymanowsky et Zylberlast-Zand, avaient déjà signalé la présence des cellules qui, à la suite des recherches de Rio Hortega, doivent être considérées comme des cellules mésogliques pathologiques.

La participation de la mésoglie aux lésions provoquées dans le névraxe des animaux d'expérience par le virus de la névraxite enzootique a été observée par nous déjà en 1927 (1). Nous signalions alors la prolifération et la mobilisation de cette cellule. Nous avons mentionné également la modification de l'aspect des prolongements des cellules microgliales et de leurs ramifications. Dans le cerveau des lapins morts d'encéphalo-myélite enzootique, ces dernières sont souvent épaissies, ratatinées, trapues.

Depuis, dans un travail récent fait dans notre laboratoire à l'Institut Pasteur, Bratianu et Llombard (2) ont repris l'étude de la microglie dans la maladie de Borna. Les résultats confirment et complètent ceux publiés par nous antérieurement. Les voici :

EXPÉRIENCES. — Les expériences ont porté sur 6 lapins qui ont reçu dans le cerveau une émulsion virulente de virus de Borna.

(1) NICOLAU, *loc. cit.*

(2) BRATIANU et LLOMBARD, *C. R. de la Soc. de Biol.*, **101**, 1929, p. 792.

Vingt-cinq à quarante jours après l'inoculation, on constatait le début de la maladie (râble mou, amaigrissement, parésies). Les

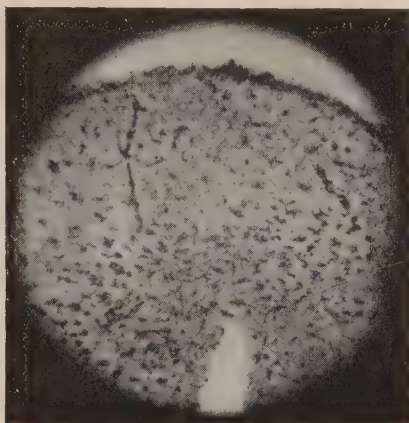


FIG. 5. — Prolifération de la microglie (microphotographie).

animaux ont succombé quarante à cinquante jours après l'inoculation, présentant les symptômes typiques de la maladie de Borna.



FIG. 6. — Hyperplasie et hypertrophie microglie dans le cerveau des lapins morts d'encéphalo-myélite enzootique expérimentale (microphotographie).

Étude histo-pathologique. Lésions mésogliques. On constate, par la méthode de Rio Hortega, des lésions diffuses, sans topographie précise, consistant dans l'hypertrophie, l'hyper-

plasie, la mobilisation et la métamorphose des cellules mésogliques. L'hypertrophie est due probablement à l'emmagasinement de substances de déchets phagocytées, augmentant l'argentophilie des cellules. La métamorphose consiste en



FIG. 7. — Métamorphose de la microglie (formes amœboïdes).

l'apparition de formes multiples faisant insensiblement la transition entre les cellules normales et les corps granulo-graisseux. C'est ainsi qu'on rencontre des cellules mésogliques lamelliformes, endothéliiformes, « en bâtonnets », amœboïdiformes, ou globuleuses et vacuolaires, conservant leur affinité

pour la coloration spécifique de la mésoglie (fig. 5, 6, 7, 8 et 9 (1). La multitude de ces formes est en rapport direct avec

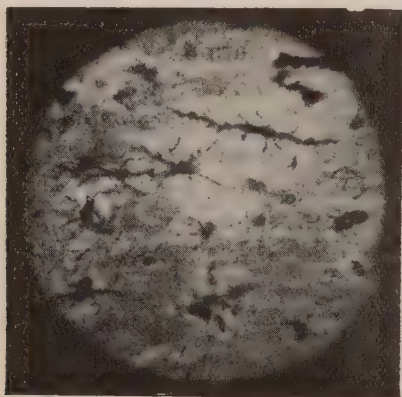


FIG. 8. — Formes « en bâtonnet » des cellules microgliales.

l'intense pouvoir migrateur qu'acquièrent les cellules mésogliques dans les cas pathologiques. Des cellules mésogliques

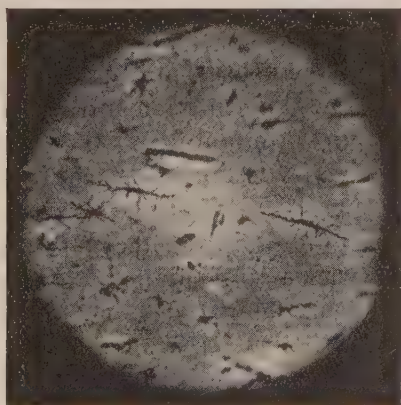


FIG. 9. — Cellules microgliales revêtant la forme « en bâtonnet ».

en mitose n'ont pas été rencontrées, mais, par contre, la pré-

(1) Ces figures ont servi à illustrer le travail fait par Bratianu et Lombard dans notre laboratoire et publiées dans *C. R. de la Soc. de Biol.*, 101, 1929, p. 792, et dans *Ann. d'Anat. Path.*, 6, 1929, p. 849.

sence des cellules binucléées, représentant peut-être des phases précinétiques (division directe), a été constatée assez souvent. Les manchons périvasculaires dans le cerveau sont surtout formés par des cellules mononucléaires, la mésoglie ne participant presque pas à leur formation.

CONCLUSIONS. — *Dans l'encéphalo-myélite enzootique expérimentale, les lésions de la mésoglie sont identiques à celles décrites dans les autres maladies à ultravirus neurotropes. Elles ne sont pas spécifiques. Ces lésions paraissent être secondaires à des processus de désintégration nerveuse. Dans la maladie de Borna, ces altérations sont très intenses, le temps d'incubation de cette maladie étant suffisamment long pour créer des foyers inflammatoires très étendus, subaigus, avec peu de corps granulo-adipeux.*

IV. — Immunité.

1. Immunisation à l'aide de virus non atténué. — Parmi les conclusions tirées dans notre travail précédent (1), à la suite des expériences faites sur l'immunité dans l'encéphalo-myélite enzootique, nous avons mentionné les constatations suivantes : « des injections intraveineuses multiples (2), l'infection par scarification cornéenne, l'inoculation intratesticulaire de virus frais, peuvent produire l'immunité ». Il s'agissait d'animaux ayant survécu à la suite de l'infection conférée par les voies indiquées.

Par introduction unique ou répétée de virus frais dilué ou non, sous la peau, Zwick a réussi d'une manière exceptionnelle à conférer l'immunité aux lapins, et a immunisé presque constamment des chevaux.

Toujours à l'aide du virus frais, nous avons essayé d'immuniser des lapins par *inoculations intradermiques répétées*. Voici les résultats de ces expériences :

Des inoculations intradermiques d'émulsion virulente,

(1) NICOLAU et GALLOWAY, *Borna disease*, etc. His Majesty's Stationery Office, Londres, 1928.

(2) L'immunisation par cette voie avait été obtenue par d'autres auteurs (Zwick, Ernst et Hahn).

réparties sur une surface limitée de la peau (total 1 cent. cube d'émulsion injectée) et répétées deux fois à six jours d'intervalle, ne confèrent pas l'immunité aux lapins. En effet, 5 animaux traités de cette manière (354 A, poids 2.220 grammes; 355 A, poids 2.600 grammes; 356 A, poids 2.480 grammes; 357 A, poids 2.150 grammes et 359 A, poids 1.920 grammes), inoculés avec du virus frais dans le cerveau quatre-vingt-trois jours après la dernière injection vaccinnante, se sont montrés sensibles et sont morts de la maladie de Borna respectivement en vingt, trente-trois, vingt-sept, vingt-neuf et vingt-neuf jours.

L'immunisation à l'aide du virus frais est donc très difficile à obtenir, quelle que soit la voie d'introduction du virus dans l'organisme. Les animaux meurent de la maladie provoquée par le virus inoculé, ou, s'ils résistent, ils ne se montrent pas réfractaires à l'inoculation d'épreuve. Rares sont les exceptions. Mais, de toute manière, la méthode de vaccination à l'aide du virus frais n'est pas pratique, la maladie pouvant être disséminée par les animaux en voie d'immunisation (1). Il faut s'adresser au virus atténué.

2. Immunisation par du virus atténué fortuitement. — L'atténuation fortuite — *in vivo* ou *in vitro* — peut transformer le germe pathogène en virus vaccinant. Ainsi, nous avons donné antérieurement (2) l'observation d'un lapin 223 A (poids 2.280 grammes) inoculé dans le cerveau avec une pulpe glycerinée de cerveau virulent, pulpe gardée à la température de la chambre pendant plusieurs semaines. L'animal survécut à une attaque bénigne de la maladie et se montra par la suite réfractaire à plusieurs inoculations sous-dure-mériennes de virus frais de passage. Nous pouvons donner maintenant l'exemple d'un autre lapin inoculé avec du virus atténué non pas *in vitro* — comme dans le cas précédent — mais *in vivo*.

EXPÉRIENCE. — Le lapin 343 A est inoculé par voie sous-dure-mérienne, en même temps que 2 autres lapins (348 A et 349 A), avec une émulsion de nerf brachial provenant du

(1) ZWICK a trouvé le virus dans la sécrétion nasale d'un cheval ayant reçu 3 injections vaccinnantes de virus frais sous la peau.

(2) NICOLAU et GALLOWAY. *Borna Disease*, etc., Londres 1928, p. 75.

singe *M20* (mort le soixante-huitième jour après l'inoculation cérébrale de virus de Borna). Les deux derniers lapins meurent d'encéphalo-myélite typique le trente-deuxième et le quarantième jour; le lapin *343A* survit sans montrer aucun symptôme. Cent vingt-quatre jours après l'inoculation cérébrale, il est réinoculé par la même voie avec du virus frais de passage, en même temps qu'un témoin; le lapin témoin meurt de « Borna », le lapin *343A* résiste et survit, se montrant ainsi immunisé par l'inoculation antérieure d'émulsion de nerf brachial (1).

Les cas d'immunisation des animaux, obtenue à l'aide de virus atténué fortuitement — comme dans les expériences susmentionnées — sont tout à fait exceptionnels. Il fallait chercher à provoquer l'immunité à l'aide de germes dont la virulence soit atténuée expérimentalement d'une manière convenable.

3. Immunisation à l'aide de virus atténué expérimentalement.

— A. VIRUS FORMOLÉ. — Après des succès obtenus avec du virus éthéré, chloroformé, ou traité avec des rayons ultra-violet, nous nous sommes adressé au virus formolé. Les premières expériences d'immunisation avec du virus formolé introduit par voie sous-cutanée ont été relatées par nous dans un travail antérieur.

A un lot de 10 lapins, nous avons administré à cinq reprises,

(1) Tout porte à croire que le virus trouvé dans le brachial du singe *M20* (qui a servi à préparer l'émulsion) était atténué au point de vue de sa virulence, par la réaction du tissu nerveux qui luttait contre lui. Il a réussi à tuer 2 lapins, mais le troisième, infecté en même temps qu'eux, a résisté au peu de virus inoculé. Au niveau du nerf brachial de ce singe, nous avons trouvé des lésions intenses. On constate ainsi la tendance de stérilisation *in situ*, que la substance nerveuse exerce vis-à-vis du germe. Remarquons que le singe ayant fourni ce nerf avait dans son cerveau du virus en quantité suffisante pour déterminer la mort des animaux inoculés avec des émulsions préparées avec ce tissu (2 lapins inoculés avec une émulsion cérébrale). Cette tendance à l'autostérilisation locale, encore mieux illustrée dans des expériences publiées par ailleurs, nous a autorisé à écrire les lignes suivantes (*Ces Annales*, 43, 1929, p. 13) : « On constate que, malgré l'intensité des « lésions de névrite descendante, certains troncs nerveux se montrent « dépourvus de virus. Il est probable que les réactions de défense tissulaire « ont abouti à la destruction du virus à ce niveau. Il s'agirait d'une autostérilisation du genre de celle décrite par Levaditi et ses collaborateurs; « cette autostérilisation est d'autant plus probable que les animaux (singes) « ayant fourni les nerfs sont morts longtemps après leur infection, à savoir « le soixante-huitième et le soixante-treizième jour. »

à cinq jours d'intervalle, sous la peau, du virus formolé, à raison de 5 cent. cubes par injection; en même temps que la dernière injection vaccinnante, nous avons inoculé ces animaux dans le cerveau avec du virus frais de passage. Deux témoins de l'inoculation d'épreuve sont morts de « Borna », tous les deux le vingt-huitième jour; 2 des animaux vaccinés sont morts accidentellement, 5 ont succombé à l'encéphalo-myélite enzootique, et 3 se sont montrés résistants et ont survécu.

Non satisfaits de ces résultats, nous avons fait d'autres expériences d'immunisation à l'aide du virus formolé, mais dans lesquelles l'administration du virus-vaccin a été faite par voie intramusculaire ou même intracrânienne (1).

a) *Essais d'immunisation des lapins par inoculation intramusculaire de virus formolé.* — On fait une émulsion de cerveau de lapin mort de « Borna », dans de l'eau physiologique formolée à 0,2 p. 100. La dilution du matériel virulent dans le liquide d'émulsion est de 1 p. 10. On laisse l'émulsion pendant vingt-quatre heures à la température du laboratoire; des petites particules déposent au fond des tubes. Le liquide superficiel est inoculé à raison de 5 cent. cubes dans le muscle du râble des animaux. Dix lapins sont traités de cette manière. Dans un intervalle de trente-sept jours, on fait cinq injections de virus-vaccin. L'inoculation cérébrale d'épreuve est faite onze jours après la dernière injection intramusculaire de virus formolé. Le tableau n° IV donne le résultat de cette expérience.

En résumé, sur dix lapins vaccinés, quatre sont morts accidentellement de maladies intercurrentes, trois sont morts de Borna en trente-neuf, quarante-quatre et quarante-sept jours; deux sont morts en soixante jours (le passage cérébral de l'un des deux, 62 C, a donné un résultat négatif, malgré l'intensité des lésions de névraxite enzootique expérimentale); enfin, le dixième lapin, 68 C, a survécu à l'inoculation d'épreuve, s'est montré immun.

Au point de vue pratique, ces résultats sont encore moins encourageants que ceux obtenus avec ce même virus-vaccin introduit par voie sous-cutanée.

(1) Ces expériences ont été faites en collaboration avec N. Stroian (Nicolau, Galloway et Stroian, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1929, p. 607).

Ajoutons ici encore une expérience :

Le lapin 407 A (dont l'histoire a été donnée à la page 476) a pu être fortement immunisé contre l'inoculation sous-dure-mérienne de virus frais, à l'aide de 12 injections de virus formolé dans le muscle, pratiquées dans un intervalle de soixante-dix jours.

Nous pouvons conclure que *le virus formolé, injecté à plusieurs reprises dans le muscle des lapins, peut conférer l'immunité à ces animaux, mais d'une manière très inconstante.*

b) *Essais d'immunisation des lapins par inoculations intracérébrales répétées de virus formolé.* — Des essais d'immunisation à l'aide du virus formolé — préparé de la même façon que dans les expériences précédentes — mais introduit chez les lapins par voie sous-dure-mérienne, nous ont fourni les résultats suivants :

α) 2 inoculations cérébrales de virus formolé à sept jours d'intervalle ; trente-sept jours après la première inoculation, on introduit du virus frais dans le cerveau des animaux ; les deux lapins traités de cette manière sont morts de « Borna » en trente-trois et trente-six jours.

β) 3 inoculations sous-dure-mériennes de virus frais formolé, en quatorze jours ; vingt-huit jours plus tard, on introduit du virus frais par la même voie ; deux lapins ont été utilisés dans cette expérience : l'un est mort de maladie de Borna le trente-huitième jour, l'autre a succombé à une maladie intercurrente.

γ) 4 inoculations de virus formolé, dans un intervalle de vingt-trois jours ; dix-neuf jours plus tard, inoculation d'épreuve avec du virus frais ; deux sur trois des animaux traités de cette manière survivent, se montrent donc immunisés, le troisième meurt de maladie de Borna en quarante-deux jours.

δ) 5 inoculations intracrâniennes de virus formolé, en trente-deux jours ; dix jours après la dernière, introduction de virus frais sous la dure-mère. Cinq lapins ont subi ces opérations : quatre sont morts de maladie de Borna en trente-huit, cinquante, cinquante-sept et cinquante-huit jours, le cinquième se montre réfractaire et survit ; les témoins des réinoculations d'épreuve sont morts en trente et trente-deux jours.

Le tableau V donne l'ensemble de ces expériences.

Constatons que *l'immunisation des lapins à l'aide du virus*

TABLEAU IV. — Immunisation par inoculation musculaire de virus formolé.

NUMÉRO des lapins	12 AVRIL 1928 1 ^{re} injection de 5 cent. cubes de virus formolé Poids en grammes	19 AVRIL 1928 2 ^e injection de 5 cent. cubes de virus formolé Poids en grammes	28 AVRIL 1928 3 ^e injection de 5 cent. cubes de virus formolé Poids en grammes	10 MAI 1928 4 ^e injection de 5 cent. cubes de virus formolé Poids en grammes	19 MAI 1928 5 ^e injection de 5 cent. cubes de virus formolé Poids en grammes	30 MAI 1928 inoculation intra-crânéale d'épreuve Poids en grammes	SUITE de l'inoculation	REMARQUES
59 c	2.370	2.410	2.495	2.307	2.504	2.616	+ 29 ^e j., accidentellement.	Absence des lésions.
60 c	2.302	2.405	2.382	2.384	2.419	2.635	+ 39 ^e j.	Borna.
61 c	1.670	1.755	1.795	1.664	1.933	2.124	+ 47 ^e j.	Borna.
62 c (1)	1.965	2.405	2.485	2.480	2.442	2.617	+ 60 ^e j.	Borna.
63 c	1.590	1.720	1.700	1.735	Mort.			Accidentellement.
64 c	1.867	1.905	1.980	1.978	2.135	2.425	+ 44 ^e j.	Borna.
65 c	1.870	1.920	2.039	2.012	2.169	2.375	+ 19 ^e j., accidentellement.	Absence des lésions.
66 c	1.700	1.720	1.782	1.737	1.864	1.991	+ 31 ^e j., pneumonie.	Absence des lésions.
67 c	2.095	2.075	1.989	2.070	2.265	2.455	+ 60 ^e j.	Borna.
68 c	1.905	1.850	1.730	1.726	1.876	2.140	Survit.	Immunisé.
86 D	Témoin, non traité avec du virus formolé.						+ 32 ^e j.	Borna.

(1) Les particularités de ce cas qui ont réalisé une neuro-infection mortelle auto-stérilisée ont été relevées à la page 475.

formolé introduit par voie cérébrale à plusieurs reprises est possible, mais inconstante (3 immunisés sur 11). Remarquons, toutefois, que la mort de certains des animaux vaccinés est survenue dans un délai plus long que le délai habituel, ce qui indiquerait chez ces lapins un certain degré d'immunité acquise. La même constatation est à faire pour l'expérience suivante :

c) *Essai d'immunisation du singe à l'aide d'injections cérébrales répétées de virus formolé.* — Un singe (*Macacus rhesus* M 22), ayant reçu 6 injections intracérébrales de virus formolé (1 c. c. 5 de virus-vaccin ; quinze jours d'intervalle entre chaque injection), s'est montré sensible à l'inoculation d'épreuve faite vingt-sept jours après la dernière injection, et est mort de maladie de Borna cent huit jours plus tard ; le témoin de l'inoculation virulente, le *Macacus rhesus* M 23, est mort de maladie de Borna en soixante et onze jours.

B. ESSAIS DE VACCINATION DES LAPINS A L'AIDE DU VIRUS ATTÉNUÉ PAR L'ACTION DE LA GLYCÉRINE PHÉNIQUÉE. — Le virus glycériné et phéniqué, introduit par voie musculaire, immunise bien les lapins, à condition de suivre une certaine technique : faire une émulsion à 1 p. 5 de matière cérébrale virulente dans de l'eau physiologique ; ajouter, à un volume de cette émulsion, 4 volumes du mélange : glycérine 60 cent. cubes + eau distillée 39 c. c. 5 + acide phénique 0 gr. 5. Cette émulsion, gardée à 26°, sert à immuniser les lapins par *une seule injection intramusculaire*. Nous avons fait une expérience sur 22 lapins, en leur inoculant 1 cent. cube d'émulsion de virus glycériné phénolé, gardé à 26° pendant un temps variant entre vingt-quatre heures et neuf jours. Certains animaux, inoculés avec le virus-vaccin gardé à 26° pendant un, deux, trois, quatre, cinq ou six jours, sont morts de maladie de Borna, ou ont présenté des parésies ou des paralysies et se sont remis ; d'autres n'ont rien montré de particulier et ont résisté à l'inoculation cérébrale d'épreuve de virus frais, inoculation faite soixante-dix jours plus tard environ. Enfin, trois lots de deux lapins injectés dans le muscle du râble avec du virus-vaccin conservé respectivement sept, huit ou neuf jours à 26°, se sont montrés exempts de tout symptôme morbide, et, inoculés environ soixante-dix

TABLEAU V. — Immunisation par injection sous-dure-mérienne de virus formolé.

NUMÉRO des lapins	26 JUILLET 1928 1 ^{re} injection de virus formolé	2 AOUT 1928 2 ^e injection de virus formolé	9 AOUT 1928 3 ^e injection de virus formolé	18 AOUT 1928 4 ^e injection de virus formolé	27 AOUT 1928 5 ^e injection de virus formolé	6 SEPTEMBRE 1928 inoculation cérébrale d'épreuve	SUITE de l'inoculation	REMARQUES
a	41 A	Injection.	—	—	—	Inoculé.	+ 33 j.	Borna.
	42 A	Injection.	—	—	—	Inoculé.	+ 37 j.	Borna.
b	43 A	Injection.	Injection.	—	—	Inoculé.	+ accidentellement.	—
	44 A	Injection.	Injection.	Injection.	—	Inoculé.	+ 38 j.	Borna.
c	45 A	Injection.	Injection.	Injection.	Injection.	Inoculé.	Survit.	Immunisé.
	46 A	Injection.	Injection.	Injection.	—	Inoculé.	Survit.	Immunisé.
d	17 A	Injection.	Injection.	Injection.	—	Inoculé.	+ 42 j.	Borna.
	18 A	Injection.	Injection.	Injection.	Injection.	Inoculé.	Survit.	Immunisé.
e	19 A	Injection.	Injection.	Injection.	Injection.	Inoculé.	+ 58 j.	Borna.
	20 A	Injection.	Injection.	Injection.	Injection.	Inoculé.	+ 57 j.	Borna.
f	21 A	Injection.	Injection.	Injection.	Injection.	Inoculé.	+ 50 j.	Borna.
	22 A	Injection.	Injection.	Injection.	Injection.	Inoculé.	+ 38 j.	Borna.
g	56 A	Témoins non injectés avec virus formolé.					+ 30 j.	Borna.
	57 A						+ 35 j.	Borna.

jours plus tard dans le cerveau avec du virus frais, ont survécu, tandis que deux témoins des inoculations virulentes d'épreuve ont contracté la maladie de Borna et sont morts en quarante-six jours.

Dans le tableau VI, on voit l'ensemble de cette expérience.

Les résultats obtenus dans l'immunisation des lapins à l'aide du virus émulsionné dans la glycérine phéniquée et gardé à 26° pendant sept, huit ou neuf jours, sont remarquables. L'immunité conférée par une seule injection intramusculaire de 1 cent. cube de ce virus-vaccin a été très solide : les animaux éprouvés par voie cérébrale se sont montrés résistants (1).

Dans un autre essai, nous avons obtenu l'immunisation d'un lapin, à l'aide de 1 cent. cube du même virus-vaccin inoculé *sous la peau*. Voici l'expérience :

EXPÉRIENCE. — Le lapin 383 A est injecté sous la peau avec 1 cent. cube de virus gardé pendant quarante-huit heures à 26° en contact avec la glycérine phéniquée. Il ne montre par la suite aucun symptôme morbide pendant soixante-huit jours. On l'inocule alors dans le cerveau, en même temps qu'un animal témoin, avec du virus frais de passage. Le témoin succombe de maladie de Borna dans le délai habituel; le lapin 383 A se montre réfractaire, résiste à l'inoculation d'épreuve et survit.

Comme suite à ces expériences, nous avons fait un autre essai d'immunisation à l'aide du virus atténué de la même manière, mais gardé pendant onze jours à 26°. Deux singes (*Macacus rhesus*) et quatre lapins ont été injectés par voie intramusculaire avec le virus-vaccin; les premiers avec 4 cent. cubes,

(1) Les six derniers lapins qui se sont montrés ainsi immunisés (43 B, 44 B, 45 B, 46 B, 53 B et 54 B) ont été réinoculés, plusieurs fois depuis, par voie sous-dure-mérienne avec du virus frais. Leur résistance a été parfaite. La première réinoculation cérébrale a eu lieu cent quarante-six jours après l'inoculation cérébrale d'épreuve; les animaux immunisés ont survécu, le témoin est mort. Dans l'intention de rompre l'état réfractaire acquis, nous avons pratiqué ensuite trois inoculations cérébrales consécutives avec une souche de germes très virulente, dans un intervalle de treize jours. Ils ont supporté les trois épreuves sans montrer rien de particulier. Enfin, les six mêmes lapins immuns, inoculés dans le cerveau avec du virus frais *juste un an* après la première inoculation d'épreuve, ont survécu, tandis que le témoin est mort. Ceci montre que l'état réfractaire, conféré aux lapins à l'aide du virus atténué par la glycérine phéniquée, est très solide et dure longtemps.

TABLEAU VI. — Immunisation des lapins
par infection intramusculaire de virus glycérophénolé.

TEMPS D'ACTION de la glycérine phénolée sur le virus à 26°	NUMÉRO DES LAPINS	POIDS en grammes	SUITE de l'injection musculaire immunisante	TEMPS ÉCOULÉ jusqu'à l'inoculation cérébrale d'épreuve	SUITE de l'inoculation d'épreuve	REMARQUES
10 minutes.	27 B	1.980	+ 49 j.	—	—	Borna.
	28 B	1.540	+ 43 j.	—	—	Borna.
24 heures.	31 B	1.780	Parésies passagères.	77 j.	Survit.	Immunisé.
	32 B	1.400	Parésies passagères.	77 j.	Survit.	Immunisé.
48 heures.	33 B	1.480	+ 47 j.	—	—	Borna.
	34 B	1.660	+ pneumonie.	—	—	Accidentellement.
3 jours.	35 B	1.540	+ 107 j.	—	—	Borna.
	36 B	1.800	Parésies passagères.	—	—	V. page 482.
4 jours.	37 B	1.580	Mort accidentellement.	—	—	Accidentellement.
	38 B	1.300	0	74 j.	—	Immunisé. V. page 480.
5 jours.	39 B	1.640	+ 46 j.	—	—	Borna.
	40 B	1.520	Malade, parésie, guérit.	—	—	V. page 483.
6 jours.	41 B	1.640	Paralysies récurrentes.	—	—	V. page 482.
	42 B	1.750	+ accidentellement.	—	—	Accidentellement.
7 jours.	43 B	1.360	0	71 j.	Survit.	Immunisé.
	44 B	1.220	0	71 j.	Survit.	Immunisé.
8 jours.	45 B	960	0	70 j.	Survit.	Immunisé.
	46 B	1.400	0	70 j.	Survit.	Immunisé.
9 jours.	53 B	1.120	0	69 j.	Survit.	Immunisé.
	54 B	1.460	0	69 j.	Survit.	Immunisé.
Virus frais, témoins.	74 B	1.940	Témoins des inoculations d'épreuve.	+ 46 j		Borna.
	75 B	1.800		+ 46 j.		Borna.

les derniers avec 2 cent. cubes. Quatorze jours plus tard, les animaux ont été éprouvés par voie cérébrale avec du virus frais de passage. Le tableau VII montre la suite de cette expérience.

TABLEAU VII. — Essais d'immunisation à l'aide du virus atténué par la glycérine phéniquée, gardé pendant onze jours à 26°.

14 MAI 1929 animal inoculé avec virus-vaccin	28 MAI 1929 inoculation cérébrale d'épreuve	SUITE de l'inoculation cérébrale d'épreuve	CONTRÔLE histologique	PASSAGES sur lapins	REMARQUES
Singe M28.	cent. cubes 1,5	+ 83 j.	+++	—	Sensible.
Singe M29.	1,5	+ 48 j.	+++	—	Sensible.
Lapin 338.	0,3	Parésies, rémission, + accidentellement 169 ^e j.	+	391 B négatif. 392 B négatif.	Immunisé.
Lapin 339.	0,3	+ 29 j.	+++	—	Sensible.
Lapin 340.	0,3	+ 29 j.	+++	—	Sensible.
Lapin 341.	0,3	+ accidentellement.	6	—	—
Témoin inoculé avec virus frais. Lapin 343.	0,3	+ 24 j.	+++	—	Sensible.

Les résultats défavorables de cette expérience sont dus à deux facteurs :

- Le virus-vaccin a été gardé sous l'influence atténuante de la glycérine phéniquée pendant trop longtemps (onze jours);
- Les animaux vaccinés ont été éprouvés au point de vue de la résistance après un temps trop court (quatorze jours après l'injection vaccinnante).

CONCLUSIONS. — Ces expériences, réalisées sur un total de 28 lapins et 2 singes, montrent que le virus de la maladie de Borna, atténué par l'action de la glycérine phéniquée, à 26°,

pendant sept, huit, ou neuf jours, se comporte comme un vaccin immunisant très efficace. Introduit dans les muscles sous forme d'injection unique de 1 cent. cube par animal, il confère une immunité très solide et durable. Il est nécessaire de laisser s'écouler un temps suffisamment long (soixante-dix jours environ) après la vaccination pour permettre la réalisation de l'état réfractaire des lapins contre l'inoculation cérébrale virulente d'épreuve.

L'injection sous-cutanée du même virus-vaccin peut conférer également une immunité solide au lapin.

4. Étude des anticorps chez les animaux immunisés contre la névraxite enzootique expérimentale. — Dans la première partie de ce chapitre, nous exposons les résultats de nos recherches sur la présence des anticorps virulicides *in vitro*, contenus dans le sérum et dans les organes des lapins immunisés expérimentalement contre le virus de la maladie de Borna (1). Ces expériences ont été faites à l'aide des mélanges de sérum ou d'émulsions d'organes provenant d'animaux vaccinés.

Dans la seconde partie, nous avons cherché les anticorps dans les tissus et dans le sérum, à l'aide de la réaction de fixation du complément.

A. ANTICORPS VIRULICIDES DANS LES ORGANES DES LAPINS IMMUNISÉS. — On peut mettre en évidence des anticorps virulicides, *in vitro*, dans le cerveau de lapins immunisés et ayant résisté à une ou plusieurs inoculations intracérébrales d'épreuve. En effet, les mélanges à volumes égaux d'émulsion virulente + émulsion de cerveau, provenant de lapins immunisés, après un séjour de deux heures et demie à 37°, *se sont montrés dépourvus de virulence, 2 fois sur 4 essais* (cerveaux provenant de 4 lapins immunisés). Les mélanges de virus + sérums de lapins immunisés (3 essais), ainsi que les mélanges de virus + cerveau de lapins normaux (4 essais), ou de virus + sérum de lapins normaux (3 essais), gardent leur virulence après un séjour de deux heures et demie à 37°. Ces

(1) Nous considérons qu'un animal est immunisé contre cette maladie quand, après le traitement immunisant, il résiste à une ou plusieurs inoculations cérébrales d'épreuve de virus frais de passage.

TABLEAU VIII. — Expériences faites pour mettre en évidence les anticorps virulicides dans le cerveau et le sérum des lapins immunisés.

EXPÉRIENCE	MÉLANGES GARDÉS 2 h. 1/2 à 37°	NUMÉRO des lapins inoculés	SUITE des inoculations	CONTRÔLE histologique	REMARQUES
A	Cerveau immunisé 63c + virus.	73 c	Survit.		Neutralisation.
		77 c	Survit.		Neutralisation.
	Cerveau normal + virus.	75 c	+ 46° j.	+++	—
		76 c	+ 44° j.	+++	—
B	Cerveau immunisé 16 A + virus.	79 c	+ 50° j.	+++	—
		94 c	+ 33° j.	+++	—
	Cerveau normal + virus.	89 c	+ 38° j.	+++	—
		91 c	+ 30° j.	+++	—
	Sérum immunisé 16 A + virus.	90 c	+ 25° j.	+++	—
		92 c	+ 27° j.	+++	—
	Sérum normal + virus.	87 c	+ 32° j.	+++	—
		88 c	+ 32° j.	+++	—
C	Cerveau immunisé 18 A + virus.	11 AB	+ 47° j.	+++	—
		12 AB	+ 47° j.	+++	—
	Cerveau normal + virus.	15 AB	+ 50° j.	+++	—
		16 AB	+ 43° j.	+++	—
	Sérum immunisé 18 A + virus.	13 AB	+ 25° j.	+++	—
		14 AB	+ 33° j.	+++	—
	Sérum normal + virus.	17 AB	+ 36° j.	+++	—
		18 AB	+ 39° j.	+++	—
D	Cerveau immunisé 15 A + virus.	25 AB	Survit.		Neutralisation.
		26 AB	+ accid., 24 h.	—	
	Cerveau normal + virus.	61 A	+ 44° j.	+++	—
		22 c	+ accid., 4° j.	—	
	Sérum immunisé 15 A + virus.	27 AB	+ 41° j.	+++	—
		28 AB	+ 70° j.	+	
	Sérum normal + virus.	30 AB	+ 41° j.	+++	—
		29 AB	+ accid., 8° j.	+	

TABLEAU IX. — Recherches des anticorps virulicides
dans les organes du lapin immunisé 53B.

MÉLANGES INOCULÉS		NUMÉRO des lapins	POIDS en grammes	SUITE des inoculations	CONTRÔLE histologique
Tissus de lapin immunisé.	Cerveau + virus.	260 B	2.200	+ 39° j.	Positif.
		261 B	2.120	+ 39° j.	Positif.
	Sérum + virus.	258 B	2.300	+ 30° j.	Positif.
		259 B	2.300	+ 28° j.	Positif.
	Capsules surrénales + virus.	262 B	2 000	+ 25° j.	Positif.
		263 B	2.340	+ 26° j.	Positif.
	Rein + virus.	266 B	2.300	+ 32° j.	Positif.
		267 B	2.220	+ 31° j.	Positif.
Tissus de lapin normal.	Cerveau + virus.	268 B	2.300	+ 29° j.	Positif.
		269 B	2.240	+ 27° j.	Positif.
	Sérum + virus.	276 B	3.100	+ 28° j.	Positif.
		277 B	2.000	+ 27° j.	Positif.
	Capsules surrénales + virus.	270 B	2.640	+ 39° j.	Positif.
		272 B	2.300	+ 40° j.	Positif.
	Rein + virus.	274 B	2.500	+ 29° j.	Positif.
		275 B	1 600	+ 25° j.	Positif.
Témoins.	Virus utilisé.	278 B	2.400	+ 32° j.	Positif.
	Cerveau immunisé seul.	280 B	2.300	Survit.	—
		281 B	2.300	Survit.	—

résultats sont la conclusion des expériences faites sur un total de 28 lapins (chaque mélange ayant été inoculé à deux animaux) [1].

Le tableau VIII donne l'ensemble de ces expériences.

Dans une autre expérience, nous avons recherché les anticorps neutralisant le virus *in vitro*, dans le cerveau, le sérum, le rein et les capsules surrénales d'un lapin immun (53 B). Les mélanges, faits de la même manière que dans les expériences précédentes, ont été gardés pendant vingt-quatre heures à la température du laboratoire, ensuite centrifugés, et le liquide superficiel inoculé dans le cerveau des lapins neufs.

Le tableau IX montre les détails de cette expérience.

Nous n'avons donc pas réussi à mettre en évidence, dans cette série d'expériences, des anticorps dans le cerveau, le sérum, les capsules surrénales et dans le rein d'un animal fortement immunisé.

Nous avons fait une autre expérience du même genre. La différence entre celle-ci et la précédente consiste dans le fait que les mélanges, au lieu d'être gardés pendant vingt-quatre heures à la température de la chambre, ont été mis à 37° pendant deux heures. L'animal immun ayant fourni les organes pour les émulsions était le lapin 44 B, ayant résisté à plusieurs inoculations cérébrales d'épreuve.

L'expérience figure dans le tableau X.

Dans cette expérience encore, nous n'avons pas réussi à mettre en évidence des anticorps virulicides dans le cerveau, le sérum sanguin, le rein et le foie d'un lapin immunisé. Seule l'émulsion de capsules surrénales provenant de l'animal immun a neutralisé, en partie, le virus qu'on lui a ajouté.

L'ensemble de ces expériences faites sur un total de 63 lapins montre que, par la méthode de neutralisation du virus *in vitro*, on peut mettre en évidence, d'une manière

(1) Le virus utilisé dans ces expériences était le liquide superficiel d'une émulsion au 1/10 de cerveau frais de lapin mort de la maladie de Borna, centrifugée très peu. Les émulsions de cerveau, provenant des animaux immunisés, étaient très épaisses (1/2 cerveau émulsionné dans 2 cent. cubes d'eau physiologique); les mélanges de ces émulsions avec l'émulsion virulente étaient faits à parties égales. Les mélanges sérum + virus étaient faits dans la proportion de 2 volumes de sérum pour un volume d'émulsion virulente.

inconstante, des anticorps dans le cerveau et dans les capsules surrénales des lapins immunisés contre la maladie de Borna.

TABLEAU X. — Recherche des anticorps virulicides dans les organes du lapin immunisé 44 B.

MÉLANGES INOCULÉS		NUMÉRO des lapins	POIDS en grammes	SUITE des inoculations	CONTRÔLE histologique
Tissus de lapin immunisé.	Cerveau + virus.	305 B	1.640	+ 36 j.	Positif.
	Sérum + virus.	302 B	2.420	+ 38 j.	Positif.
		303 B	1.460	+ 34 j.	Positif.
	Rein + virus.	306 B	1.880	+ 35 j.	Positif.
		307 B	2.840	+ 35 j.	Positif.
	Foie + virus.	309 B	1.660	+ 36 j.	Positif.
	Capsules surrénales + virus.	310 B	2.220	Survit.	—
		311 B	1.980	+ 38 j.	Positif.
Tissus de lapin normal.	Cerveau + virus.	315 B	1.900	+ 29 j.	Positif.
	Sérum + virus.	313 B	1.920	+ 35 j.	Positif.
	Rein + virus.	316 B	1.860	+ 29 j.	Positif.
		317 B	1.860	+ 36 j.	Positif.
	Foie + virus.	318 B	2.040	+ 29 j.	Positif.
	Capsules surrénales + virus.	321 B	2.200	+ 40 j.	Positif.
Témoins.	Virus utilisé.	322 B	2.360	+ 39 j.	Positif.
	Cerveau immunisé.	300 B	1.980	Survit.	—

Contrairement à Zwick (1), nous n'avons pas réussi à trouver

(1) ZWICK, SEIFRIED et WITTE. *Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*, 30, 1925, p. 120; *ibid*, 32, 1927, p. 160.

des anticorps dans le sérum de ces animaux. Ce dernier résultat négatif a été déjà enregistré par nous dans notre travail précédent (1). D'où vient la différence entre nos résultats et ceux obtenus par l'auteur allemand? Nous pensons, tout simplement, du fait que ce dernier utilise dans ses expériences le virus sous forme d'émulsion diluée au vingtième et passée à travers des filtres en amiante. La filtration retient une grande partie des germes, si bien que l'émulsion est à la limite de concentration nécessaire pour conférer la maladie aux animaux inoculés (2). Les conditions expérimentales dans lesquelles s'est placé Zwick sont donc extrêmement délicates et l'interprétation de ses résultats doit être faite avec la plus grande prudence. Quoi qu'il en soit, constatons que *nos expériences de neutralisation du virus in vitro à l'aide d'anticorps tissulaires ont montré le pouvoir virulicide (inconstant il est vrai) de la substance cérébrale et des capsules surrénales provenant des animaux immunisés.*

Nous avons continué nos recherches sur les anticorps dans l'organisme des animaux rendus réfractaires au virus de la névraxite, par la *réaction de fixation du complément* (3).

B. RÉACTIONS DE FIXATION DU COMPLÉMENT. — *Présence de la sensibilisatrice dans le sérum des animaux immunisés contre l'encéphalo-myélite enzootique.* — Nous avons étudié la réaction de fixation du complément dans le sérum des lapins immunisés expérimentalement contre le virus de la maladie de Borna. La méthode de réaction sérologique utilisée a été celle de Calmette et Massol (dose fixe d'antigène, doses croissantes d'alexine diluée au 1/10) que nous avons considérée comme plus sensible dans ce cas particulier. Voici en résumé les résultats que nous avons obtenus :

Antigènes Borna, sérums de lapin immunisés contre la maladie de Borna ou sérums provenant d'animaux immunisés contre des virus du même groupe (ectodermoses neuro-

(1) NICOLAU et GALLOWAY, *Borna disease*, etc., 1928, p. 73.

(2) En effet, dans les expériences de Zwick, il arrive que l'animal témoin, inoculé avec mélange de sérum normal + virus, survive.

(3) En collaboration avec Stroian : NICOLAU et STROIAN. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 100, 1929, p. 86; STROIAN, *ibid.*, 100, 1929, p. 83.

tropes). — *Antigènes* : Nous avons commencé nos recherches en utilisant un antigène préparé avec du cerveau de lapin mort de maladie de Borna, selon la technique de R. Kraus et de ses collaborateurs (koktoantigène) [1]. Un autre antigène utilisé par nous était constitué par de l'extrait aqueux (eau physiologique) de cerveau d'animal mort de maladie de Borna, extrait chauffé seulement à 60°. Ensuite, nous avons préparé des antigènes alcooliques : avec le cerveau desséché dans le vide, on obtient par broyage une poudre, qui, émulsionnée dans de l'alcool éthylique ou dans de l'alcool méthylique, donne une émulsion que l'on garde pendant sept jours à la température de la chambre et qu'on agite de temps en temps ; on utilise le liquide superficiel dilué convenablement. Le meilleur de ces quatre espèces d'antigène nous a semblé être l'antigène méthylique. Aussi nous a-t-il servi dans presque toutes nos expériences, en même temps qu'un antigène aqueux. Ces antigènes conservent assez bien leur titre initial à la glacière ; cependant, avant chaque expérience, nous les avons titrés de nouveau.

Résultat des réactions : a) Un grand nombre de réactions de fixation du complément faites avec des sérums provenant d'animaux immunisés (lapins qui supportent sans aucun trouble des injections sous-dure-mériennes de milliers de doses mortelles de virus frais) ont mis en évidence la sensibilisatrice dans ces sérums, et ceci d'une manière constante.

b) Les sérums des lapins normaux fournissent toujours des résultats négatifs.

c) En utilisant toujours des antigènes de Borna, mais des sérums provenant de lapins immunisés contre le virus herpétique introduit dans le cerveau, ou contre la neurovaccine conférée par la même voie, ou encore du sérum de singe devenu résistant contre le virus poliomyélitique inoculé dans le cerveau, nous avons obtenu dans la réaction de fixation du complément des résultats positifs (2) ; le nombre d'unités alexiques fixées était parfois sensiblement égal pour les sérums de lapins

(1) KRAUSS et TAKAKI. *Wiener kl. Wochenschr.*, n° 22, 1926, p. 624 ; *Med. Kl.*, n° 50, 1925, p. 1868 ; KRAUSS et MICHALKA. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap.*, 47, 1926, p. 304.

(2) Ces faits sont d'accord avec ceux relatés par Schultz et ses collaborateurs : *Journ. of Immunology*, 15, 1928, p. 229 et 411.

immunisés contre la maladie de Borna, contre le virus herpétique, contre le virus neurovaccinal, ou dans le sérum de singe immunisé contre le virus poliomyélitique, mais souvent plus marqué dans la maladie de Borna.

d) Des lapins ayant reçu plusieurs inoculations de substance cérébrale normale (lapin) dans le cerveau et dans le péritoine, saignés quelque temps après la dernière injection, ne présentent pas de sensibilisatrice dans leur sérum, quel que soit l'antigène utilisé dans la réaction.

e) Des sérums humains, dans lesquels la réaction de Bordet-Wassermann est positive, donnent des résultats positifs avec ces antigènes, tandis que les sérums à Bordet-Wassermann négatifs fournissent des résultats négatifs.

f) Enfin, un sérum provenant d'un homme convalescent de zona thoracique a donné des résultats négatifs avec les antigènes de Borna.

Sérums de lapins immunisés contre le virus de la maladie de Borna, antigènes divers. — Nous avons effectué une autre série d'expériences pour nous rendre compte du comportement des différents antigènes vis-à-vis des sérums provenant de lapins immunisés contre la maladie de Borna. Dans ce but, nous avons préparé les antigènes suivants :

a) Antigène aqueux préparé avec du cerveau de lapin mort d'encéphalite herpétique ;

b) Antigène méthylique préparé avec du cerveau de lapin mort d'encéphalite herpétique ;

c) Antigène aqueux préparé avec du cerveau de lapin mort d'encéphalite vaccinale ;

d) Antigène méthylique préparé avec du cerveau de lapin mort d'encéphalite vaccinale ;

e) Antigène aqueux préparé avec du cerveau de chien mort de rage à virus fixe ;

f) Antigène méthylique préparé avec du cerveau de chien mort de rage à virus fixe ;

g) Antigène aqueux préparé avec du cerveau de lapin normal ;

h) Antigène méthylique préparé avec du cerveau de lapin normal ;

i) Antigène aqueux préparé avec du cerveau de cobaye normal ;

j) Antigène méthylique préparé avec du cerveau de cobaye normal.

Les résultats des réactions effectuées avec ces antigènes en présence de sérums de lapins immunisés contre la maladie de Borna sont les suivants :

1° Les antigènes préparés avec de la substance cérébrale provenant d'animaux morts d'encéphalite herpétique, vaccinale, ou rabique (virus fixe), se comportent à peu près de la même manière que les antigènes préparés avec du cerveau d'animaux morts de maladie de Borna ; ces derniers donnent parfois des résultats positifs plus intenses ;

2° Les antigènes préparés avec du cerveau normal de lapin ou de cobaye mis en présence du sérum de lapins immunisés contre la maladie de Borna donnent également des résultats positifs dans la réaction de fixation du complément ;

3° Tous ces antigènes, aqueux ou méthyliques, fournissent des résultats négatifs dans les réactions faites avec du sérum de lapins normaux.

Anticorps tissulaires mis en évidence par la réaction de fixation du complément, dans les extraits d'organes provenant de lapins immunisés contre la maladie de Borna. — On sait que dans les maladies à ultravirus du groupe des ectodermoses neurotropes (rage, poliomyélite, encéphalite, herpès, vaccine, maladie de Borna, etc.), chaque tissu sensible s'immunise pour son propre compte, et l'état de résistance est la suite du conflit direct entre le tissu et le virus (Levaditi et Nicolau). Nous nous sommes demandé s'il était possible de mettre en évidence *in vitro* des substances ou des propriétés acquises par les tissus des animaux devenus réfractaires vis-à-vis du virus de Borna. Comme suite aux recherches précédentes, et pour répondre à cette question, nous avons cherché la présence dans les organes des lapins immunisés de substances se comportant comme des sensibilisatrices. Nous avons procédé de la manière suivante : des lapins immunisés contre le virus de l'encéphalo-myélite enzootique et ayant résisté à l'inoculation d'épreuve de ce virus par voie sous-dure-mérienne sont tués par saignée totale. Des organes (cerveau, capsules surrénales, ovaires ou testicules, foie, rate et moelle osseuse), prélevés d'une manière aseptique,

sont broyés dans le mortier, dans de l'eau distillée (un volume d'organe pour environ cinq volumes d'eau distillée), et les émulsions gardées jusqu'au lendemain à la glacière; après vingt-quatre heures, le liquide superficiel est décanté stérilement, inactivé pendant vingt minutes à 60° et replacé à la glacière. Le jour suivant, on ajoute à cet extrait aqueux un volume égal d'eau salée à 18 p. 1.000 et les émulsions, qui deviennent ainsi isotoniques, sont utilisées pour la réaction de fixation du complément. La méthode employée fut toujours celle de Calmette et Massol. Voici les résultats obtenus dans ces séries d'expériences :

Les réactions ont fourni des résultats positifs (4 séries d'expériences faites avec les extraits d'organes de lapins immuns) avec les émulsions de cerveau, le sérum sanguin, les émulsions de capsules surrénales, de testicule ou d'ovaire, de foie, de rate et de moelle osseuse. Cette énumération est faite dans l'ordre décroissant du nombre des unités alexiques fixées. Remarquons qu'avec les extraits aqueux de rate et surtout de moelle osseuse la réaction donne des résultats faiblement positifs, voire même, parfois, négatifs.

La sensibilisatrice mise ainsi en évidence dans les extraits d'organes prélevés sur des animaux immunisés ne provient pas du sang. Rappelons que les animaux ayant procuré les organes étaient tués par saignée totale. De plus, nous avons constaté que les saignées répétées appauvrissent assez vite le sang en anticorps; le sérum d'un lapin immunisé contre le virus de la maladie de Borna et donnant une réaction de fixation de complément intensément positive, après quatre ou cinq prises de sang quotidiennes de 10 cent. cubes chacune (veine marginale de l'oreille), ou après deux ou trois saignées de 15 à 20 cent. cubes à trois ou quatre jours d'intervalle chacune, peut donner une réaction franchement négative. Si l'on sacrifie l'animal à ce moment, toujours par saignée totale, les extraits d'organes (cerveau, capsules surrénales, ovaire ou testicule, foie) donnent encore des résultats positifs dans la réaction, comme si les animaux n'avaient rien subi de particulier; néanmoins, dans certains cas, la rate et la moelle osseuse — organes hématopoïétiques en travail intense à cause des saignées répétées — peuvent donner des réactions de fixation négatives. Ces organes seraient

ainsi appauvris en anticorps par le fait de la suractivité imposée. Les animaux laissés au repos pendant environ vingt jours présentent de nouveau des anticorps dans le sérum sanguin. Nous sommes portés à croire que les substances qui modifient le signe de la réaction de fixation du complément et qui se trouvent dans le sérum des animaux immunisés expérimentalement sont des produits ayant pris naissance, non pas dans le torrent sanguin, ni dans les organes hématopoïétiques (rate, moelle osseuse), mais dans d'autres tissus qui ont été aux prises avec le virus. Ceci est évident si l'on juge d'après les résultats relatés plus haut.

Comme la sensibilisatrice du sérum des lapins devenus réfractaires à la maladie de Borna, la sensibilisatrice contenue dans les extraits des organes de ces animaux peut être mise en évidence dans la réaction de fixation du complément par des antigènes non spécifiques. Les antigènes : *a*) herpétique aqueux; *b*) vaccinal aqueux; *c*) aqueux préparé avec du cerveau normal de lapin; *d*) rabique aqueux (cerveau de chien mort de rage à virus fixe); *e*) méthylique préparé avec du cerveau normal de cobaye; *f*) aqueux préparé également avec du cerveau normal de cobaye, donnent des résultats comparables à ceux qu'on note avec les antigènes préparés avec des cerveaux de lapins morts de maladie de Borna; mais l'intensité des réactions positives obtenues avec ces derniers antigènes peut être parfois plus marquée. Les antigènes de Borna (aqueux ou méthyliques) donnent des résultats positifs dans les réactions de fixation du complément faites avec des extraits d'extraits d'organes de lapins immunisés contre le virus herpétique ou neurovaccinal. Par contre, les extraits des organes d'animaux normaux fournissent toujours des réactions négatives, quel que soit l'antigène utilisé.

CONCLUSIONS. — *Par la réaction de fixation du complément, on peut mettre en évidence, chez les lapins immunisés contre la maladie de Borna, la sensibilisatrice dans le sérum, ainsi que dans les extraits d'organes suivants : cerveau, capsule surrénale, testicule, ovaire, foie, rate et moelle osseuse (1). Les anticorps*

(1) Cette énumération est faite dans l'ordre décroissant du nombre des unités alexiques fixées.

prennent probablement naissance dans les tissus qui ont été aux prises avec le virus (immunité tissulaire); ils sont déversés petit à petit dans le torrent circulatoire. La sensibilisatrice trouvée chez les animaux immunisés contre le virus de Borna n'est pas strictement spécifique, puisque la réaction donne des résultats positifs — quoique d'intensité moins marquée — avec des antigènes herpétiques, rabiques, vaccinaux, etc.; la réciproque est vraie (réactions plus ou moins positives, faites avec antigènes de Borna et anticorps herpétiques, rabiques, vaccinaux, poliomyélitiques, etc.).

C. RÉACTIONS D'IMMUNITÉ CROISÉE ENTRE DIVERSES SOUCHES DE VIRUS DE L'ENCÉPHALO-MYÉLITE ENZOOTIQUE. — On sait que l'encéphalo-myélite enzootique peut s'attaquer spontanément au moins à trois espèces animales : cheval, bœuf, mouton. On a réussi à isoler, chez ces trois espèces animales, des germes dont les propriétés — étudiées d'une manière incomplète — se ressemblent. La maladie reproduite chez le lapin par chacune des trois souches est à peu près la même. Chez ces animaux on a trouvé des corps de Joest-Degen, inclusions oxyphiles intranucléaires, quelle que soit la souche inoculée (la souche équine isolée par Zwick, la souche bovine isolée par Ernst et Hahn, et la souche ovine isolée par Beck, Frohböse et Miessner). Ces trois souches sont-elles identiques? Les constatations histologiques tendent à l'affirmer; la maladie expérimentale des lapins, de même. Il restait à faire les expériences d'immunité croisée entre les souches, pour confirmer l'hypothèse de manière certaine.

C'est ce que nous avons fait.

Dans notre travail de 1927 (1) nous donnions les résultats des expériences d'immunité croisée entre la souche équine de Zwick et la souche ovine de Miessner. Nous disions : « *The strain of encephalo-myelitis virus isolated from the horse infected with Borna (Zwick strain) suitably attenuated renders rabbits resistant to the intracerebral inoculation with the virus isolated from the brain in sheep (Miessner strain)* ».

L'identité entre les deux souches était ainsi démontrée.

(1) NICOLAU et GALLOWAY, *loc. cit.*, août 1927; NICOLAU, *loc. cit.*

Zwick, Seifried et Witle ont confirmé ces expériences (1). Il restait à démontrer l'identité entre la souche bovine et l'une des deux souches précédentes pour prouver expérimentalement que les trois espèces animales sont frappées par un même germe dans les épizooties. C'est à quoi nous nous sommes attachés et nos expériences nous ont permis de résoudre le problème.

a) *Le lapin, immunisé contre la souche bovine, résiste à l'inoculation cérébrale virulente d'épreuve, de souche équine.*

EXPÉRIENCE : Le lapin 331 B (poids 2.200) reçoit dans le péritoine trois inoculations de virus frais au 1/10, dans un intervalle de trente jours [virus bovin Ernst (2)]. Cinq jours après la dernière injection immunisante, on lui introduit dans le cerveau du virus frais (même souche bovine, passée dans notre laboratoire, par le cerveau de lapins), en même temps qu'au lapin témoin 344 B (poids 2.320 grammes). Ce dernier meurt avec des symptômes caractéristiques et lésions histologiques, typiques, y compris la présence des corpuscules de Joest-Degen. Le lapin 331 B résiste et survit, se montrant donc immunisé. Cent onze jours plus tard, ce même animal, *devenu réfractaire contre la souche bovine, est inoculé toujours par voie cérébrale, avec un virus frais d'origine équine*, entretenu depuis longtemps sur des lapins dans notre laboratoire. On inocule en même temps et par la même voie deux lapins neufs, témoins (345 B, poids : 2.800 grammes et 346 B, poids : 2.120 grammes). Ces deux lapins meurent de Borna respectivement en quarante-trois et quarante-quatre jours; l'animal immunisé contre la souche bovine résiste à l'inoculation de souche équine, se montrant donc réfractaire également contre cette souche.

b) *Lapin immunisé contre la souche encéphalo-myélitique équine résiste à l'inoculation cérébrale d'épreuve, de souche bovine.*

Le lapin 54 B, *fortement immunisé contre le virus de provenance équine, est inoculé dans le cerveau avec la souche bovine* (Ernst) entretenue par passages sur lapins dans notre labo-

(1) ZWICK, SEIFRIED et WITTE, *loc. cit.*, décembre 1927.

(2) Nous remercions vivement M. W. Ernst d'avoir eu l'obligeance de mettre à notre disposition la souche *von einem Rinde stammt*.

ratoire. En même temps, par la même voie et avec le même virus bovin, on inocule deux lapins 328 B (poids : 2.040 grammes) et 329 B (poids : 1.680 grammes). Ces deux derniers animaux succombent à la névrauxite expérimentale (contrôle histologique positif) respectivement en trente-six et vingt-cinq jours ; l'animal, immunisé contre la souche équine, résiste à l'inoculation de virus bovin, *se montre donc immunisé contre cette dernière souche.*

CONCLUSIONS. — *Les expériences d'immunité croisée montrent que les trois virus : d'origine équine, bovine et ovine, sont identiques.*

D. EXPÉRIENCES D'IMMUNITÉ CROISÉE ENTRE LE VIRUS DE BORNA ET AUTRES VIRUS. — Nous avons démontré qu'il n'y a aucune espèce de relation d'immunité croisée entre le virus de Borna et celui de l'herpès ou de la rage. Nos expériences relatées antérieurement (1927-1928) le prouvaient d'une manière concluante. Récemment (1929) Zwick et ses collaborateurs ont publié des épreuves analogues, en ce qui concerne la rage, et qui confirment pleinement nos conclusions. Ces auteurs ont fait également des expériences d'immunité croisée entre le virus de la névrauxite enzootique et la vaccine, toujours avec résultats négatifs.

Plus intéressantes sont les expériences d'immunité croisée *entre le virus de Borna et celui de la poliomyélite.* Nous avons remarqué depuis longtemps que les maladies expérimentales du singe, engendrées par un virus ou par l'autre, se ressemblent beaucoup au point de vue clinique et anatomo-pathologique ; il n'y a que la durée de l'incubation et de la maladie qui diffèrent. Une première expérience d'immunité croisée nous avait fourni un résultat curieux : Le singe M 2 (*Macacus rhesus*), inoculé dans le cerveau avec du virus de Borna, montra des paralysies récurrentes et se remit au bout du cent trentième jour de l'infection ; inoculé à ce moment avec du virus poliomyélique (en même temps que les singes M 13 et M 15 qui meurent, les deux, le onzième jour de poliomyélite contrôlée au microscope), il présente des symptômes de paralysie et meurt le vingt-sixième jour depuis l'introduction de virus poliomyéli-

tique dans son cerveau. Les passages sur singes et sur lapins *mirent en évidence dans son névraxe le virus de Borna seulement; le virus poliomyélitique n'y existait plus.*

Très réservé dans nos interprétations, malgré le fait que le virus poliomyélitique avait été détruit *in situ* dans le cerveau de ce singe, nous avons continué ces expériences. Voici un autre essai, qui montre qu'un singe fortement immunisé contre la maladie de Heine-Medin, et ayant résisté à l'inoculation sous-dure-mérienne d'une souche très virulente de poliomyélite, inoculé dans le cerveau avec du virus de Borna de passage, succombe à la névrauxite enzootique expérimentale conférée. Il s'agit du singe *M 19* (*Macacus rhesus*), qui tombe malade le soixante-quatrième jour après l'inoculation de virus de Borna, et succombe le soixante-treizième jour, avec des symptômes cliniques et des lésions anatomo-pathologiques caractéristiques, y compris la présence des corpuscules de Joest-Degen. Deux passages cérébraux sur des lapins donnent des résultats positifs (Borna). Un singe (*Macacus rhesus M 24*), inoculé sous la dure-mère avec une émulsion cérébrale provenant du singe *M 19*, meurt de maladie de Borna en soixante-dix jours.

Dans une autre expérience encore, le singe *M 14* (*Macacus rhesus*), immunisé contre la poliomyélite, est inoculé dans le cerveau, en même temps que le singe neuf *M 18*, avec une souche très pathogène de virus poliomyélitique. Le premier animal survit sans montrer aucun symptôme morbide; le témoin meurt le neuvième jour (contrôle histologique positif). Cinquante-cinq jours plus tard, le singe *M 14* est infecté, par voie sous-dure-mérienne, avec du virus frais de passage d'encéphalo-myélite enzootique; deux lapins servent de témoins de la virulence de ce virus. Les lapins meurent de Borna dans le délai habituel (contrôle histologique positif); le singe *M 14* tombe malade le quarante et unième jour et meurt sept jours plus tard. Des passages faits sur des lapins, avec comme point de départ le cerveau et la moelle de ce singe, ont donné des résultats positifs (Borna). L'autopsie et l'étude histo-pathologique du névraxe a montré que le singe *M 14* est bien mort d'encéphalo-myélite enzootique expérimentale.

Ajoutons que des essais de neutralisation *in vitro* du virus de Borna par du sérum provenant d'un singe immunisé contre

la maladie de Heine-Medin et ayant résisté à l'inoculation cérébrale d'épreuve de virus poliomyélitique ont donné également des résultats négatifs : les lapins inoculés dans le cerveau avec les mélanges de virus-sérum gardés pendant deux heures à 37° sont morts de Borna dans le délai habituel.

Nous pouvons conclure qu'il n'y a pas d'immunité croisée entre la poliomyélite et la maladie de Borna.

E. SUR LA QUESTION DE L'IDENTITÉ ENTRE LA MALADIE DE BORNA ET L'ENCÉPHALITE ENZOOTIQUE DU CHEVAL (MOUSSU ET MARCHAND). — Zwick affirme (1) que nous avons déclaré identiques les deux maladies : l'encéphalo-myéélite enzootique (maladie de Borna) et la maladie expérimentale étudiée par Moussu et Marchand en France. L'auteur allemand n'admet pas cette identité par plusieurs arguments, entre autres par le fait que dans la maladie de Borna « il n'existe jamais de neuronophagies », tandis que dans la maladie étudiée à l'Ecole d'Alfort les neuronophagies sont fréquentes.

Nous croyons que Zwick se trompe dans ses affirmations :

1° Loin de nous l'idée d'identifier deux maladies qui n'ont probablement de commun que le siège du processus infectieux. Nulle part nous n'avons soutenu cette identité. Dans nos travaux antérieurs, nous étions seulement à l'époque d'attente ; ce que nous avons écrit sur ce sujet le prouve (2). Ceci pour ce qui concerne la *maladie expérimentale* étudiée par Moussu et Marchand. Quant à l'*épizootie spontanée observée par ces auteurs* en France, nous croyons qu'il serait téméraire de nier sa ressemblance avec la maladie de Borna ;

2° Nous avons montré que les lésions de dégénérescence et les neuronophagies existent dans le système nerveux des animaux inoculés expérimentalement (figure 17 de notre travail cité plus haut) ; d'ailleurs, Zwick et ses collaborateurs ont trouvé depuis, eux aussi, de tels processus destructifs des neurones (3) et nous confirment sur ce point.

Tout porte à croire que H. Arndt (4), qui trouvait que les

(1) ZWICK. *Frohner Festschrift*. F. Enke. Stuttgart, 1928.

(2) NICOLAU et GALLOWAY. *Borna disease*, etc., 1928, pp. 8 et 23.

(3) ZWICK, SEIFRIED et WITTE, 1929, *loc. cit.*

(4) ARNDT. *Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere*, 29, 1926, p. 184.

lésions de dégénérescence des cellules ganglionnaires et les neuronophagies sont absentes dans la maladie de Borna, s'est trompé également sur ce point, ces altérations des neurones étant aujourd'hui bien connues dans cette maladie.

Conclusions générales.

1° *Le singe (Macacus rhesus) est un animal très sensible à l'encéphalo-myéélite enzootique (Borna) conférée par voie sous-dure-mérienne. L'incubation de la maladie et son évolution sont différentes suivant les individus, mais la mort survient régulièrement, après un nombre de jours depuis l'inoculation, presque toujours le même, avec une fixité remarquable.*

2° *A l'encontre des conclusions formulées par Zwick et ses collaborateurs, la poule paraît être réfractaire au virus de la maladie de Borna introduit sous la dure-mère.*

3° *Le cobaye infecté par voie cérébrale peut succomber très tard à la maladie expérimentale (plus d'un an après l'inoculation).*

4° *Le chat n'est pas sensible au virus introduit dans le cerveau.*

5° *Le chien inoculé par voie sous-dure-mérienne se montre réfractaire; mais le virus peut survivre dans son cerveau pendant longtemps (cent cinquante-huit jours).*

6° *Aux lapins, la maladie de Borna peut être transmise par inoculation intramusculaire; la voie gastrique ne se prête à l'infection expérimentale que d'une manière exceptionnelle; l'infection par cohabitation est possible. L'inoculation de germes dans des ganglions lymphatiques (poplité, inguinal), ne confère en général pas la maladie et n'amène pas la mort des lapins.*

7° *Pendant l'étude expérimentale de la maladie de Borna, chez le lapin, on rencontre des cas de « neuro-infections autostérilisées » mortelles ou non mortelles. « L'autostérilisation » d'une neuro-infection peut aboutir soit à l'immunité (cas général), soit exceptionnellement à la mort, suivant le siège et l'étendue des lésions.*

8° *On peut se demander si, dans des cas « d'autostérilisation »*

de maladie de Borna — comme dans d'autres neuro-infections neurotropes du même groupe (herpès, vaccine, poliomyélite) — il n'y a pas dissimulation du virus par les anticorps coexistants, virus que l'on ne peut alors mettre en évidence qu'après certains artifices (cataphorèse, etc.). « L'autostérilisation » ne serait donc qu'apparente).

9° La présence de corpuscules de Joest-Degen dans du tissu nerveux dépourvu de virus (« neuro-infections autostérilisées », mortelles ou non mortelles) est fréquente ; ces inclusions sont souvent dégénérées et en voie de résorption.

10° Dans le cerveau des lapins morts d'encéphalo-myélite enzootique expérimentale, la participation de la microglie aux lésions provoquées par le virus se traduit par l'hypertrophie, l'hyperplasie, la mobilisation et la métamorphose de cet élément de défense ; les modifications de la mésoglie sont plus intenses que dans d'autres infections à virus neurotrope, le temps d'incubation et la durée de cette maladie étant plus longs.

11° L'immunisation des animaux d'expérience à l'aide du virus frais est difficile à réaliser. L'inoculation par voie intradermique ne permet pas l'immunisation.

12° Le virus atténué, introduit dans l'organisme des lapins, peut aboutir à leur immunisation. Ainsi, le virus formolé, injecté à plusieurs reprises dans les muscles et dans le cerveau, amène l'état réfractaire des animaux, mais d'une manière très inconstante.

Le germe atténué pendant sept, huit ou neuf jours par l'action de la glycérine phéniquée, à 26°, administré sous forme d'injection intramusculaire unique de 1 cent. cube, immunise solidement les lapins contre l'inoculation cérébrale de virus frais.

13° Par des expériences de neutralisation du virus *in vitro*, on peut mettre en évidence des anticorps virulicides dans le cerveau et dans les capsules surrénales des lapins immunisés. A l'encontre des résultats obtenus par Zwick, nous n'avons pas réussi dans nos essais à trouver de tels anticorps dans le sérum de ces animaux.

14° La réaction de fixation du complément permet de mettre en évidence la sensibilisatrice — chez les animaux immunisés contre la maladie de Borna — dans le sérum ainsi que dans les extraits d'organes : cerveau, capsules surrénales, testicule, ovaire, foie. Les anticorps prennent naissance probablement dans

les tissus ayant été aux prises avec le virus, d'où ils sont déversés dans le torrent circulatoire. La spécificité de la sensibilisatrice trouvée n'est pas stricte; la réaction peut donner des résultats positifs — quoique d'intensité moins marquée — avec des antigènes herpétiques, rabiques, etc.

15° *Les expériences d'immunité croisée faites entre les souches de virus de l'encéphalo-myélite enzootique équine, bovine et ovine, montrent que ces souches sont identiques.*

16° *Il n'existe pas d'immunité croisée entre le virus de la maladie de Borna et celui de la maladie de Heine-Medin.*

(Travail fait à l'Institut Pasteur de Paris et au National Institute for Medical Research, Hampstead, Londres.)

Le Gérant : G. MASSON.

